

УДК 617.1; 616-002.2; 612.017.1:57.052

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ С НОРМАЛИЗОВАННЫМ ВНУТРИГЛАЗНЫМ ДАВЛЕНИЕМ, НОВЫЕ ПОДХОДЫ К КОМПЛЕКСНОМУ ЛЕЧЕНИЮ

Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ¹, Назрулла Сагдуллаевич ХОДЖАЕВ³,
Александр Николаевич ТРУНОВ^{1,2}, Аля Петровна ШВАЮК²,
Ольга Михайловна ГОРБЕНКО², Ольга Викторовна ЕРМАКОВА¹,
Владимир Иванович БРАТКО¹, Игорь Дмитриевич САФРОНОВ²

¹ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза»
им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России,
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России
127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, 59а

В исследовании установлено, что у пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) с нормализованным внутриглазным давлением (ВГД) определяется активность местного воспалительного процесса. Это свидетельствует о том, что нормализация ВГД не способна полностью предотвратить развитие заболевания, а в механизмах прогрессии ПОУГ важную роль играет выраженность воспалительного процесса, во многом определяющая активность патологического процесса. Применение метода лечения, основанного на введении в область региона микроциркуляции на стороне пораженного органа комплекса лекарственных препаратов, приводит к снижению активности воспалительного процесса и улучшению функционального состояния органа зрения.

Ключевые слова: глаукома, воспаление, цитокины, перекисное окисление липидов, лечение.

В исследованиях последних лет дискутируется постулат, что нормализация внутриглазного давления (ВГД) как медикаментозным, так и хирургическим методом лечения зачастую не предотвращает дальнейшего развития патологического процесса, исходом которого становятся слобовидение и слепота.

В научной литературе активно обсуждается значимость и роль свободнорадикальных окислительных процессов, нарушений местного иммунного реагирования, дисбаланса различных групп цитокинов, клеточных факторов роста и других биологически активных субстанций в патогенезе

первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ), а также их влияние на деятельность глутамат-кальциевого каскада, лежащего в основе феномена эксайтотоксичности, механизмы развития нейродегенерации, повреждение трабекулы, апоптоз клеток зрительного нерва [5, 9, 11–26]. Полученные в этих исследованиях данные являются основанием для разработки новых патогенетически обоснованных методов комплексного лечения глаукоматозного процесса.

В этой связи несомненный интерес представляет метод лечения, базирующийся на теоретических и практических разработках НИИ

Черных В.В. – д.м.н., проф., директор

Ходжаев Н.С. – д.м.н., проф., руководитель центра по научно-клинической работе с филиалами,
e-mail. nskhodjaev@mail.ru

Трунов А.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, руководитель лаборатории иммунологии

Шваюк А.П. – к.б.н., старший научный сотрудник

Горбенко О.М. – к.б.н., старший научный сотрудник

Ермакова О.В. – врач-офтальмолог

Братко В.И. – д.м.н., зав. отделением

Сафронов И.Д. – д.м.н., проф., ведущий научный сотрудник

клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН. Предлагаемый метод основан на введении комплекса лекарственных препаратов в область региона микроциркуляции органа, в котором развивается патологический процесс. Данный подход, по мнению авторов, способствует улучшению микроциркуляции, снятию венозного стаза, максимальному насыщению региона введения лекарственными препаратами, приводит к улучшению трофики, элиминации продуктов метаболизма, цитолиза и снижению выраженности аутоксикоза. Метод нашел свое применение при лечении различных патологических процессов, в том числе при заболеваниях органа зрения [1–4, 6, 8, 10].

Теоретическим обоснованием для использования данного метода служат достижения современной лимфологии и ее активного развивающегося раздела интерстициологии. Ведь именно в интерстиции (межклеточном матриксе) происходит значимая часть взаимодействий биологически активных молекул, в нее обращены активные центры рецепторов клеточных мембран и протекают процессы межклеточного взаимодействия. Из этой среды клетка получает необходимые для своей жизнедеятельности вещества, регуляторные гуморальные сигналы, в ней происходит развитие процессов иммунного реагирования. Данная среда обеспечивает постоянство белкового, ионного, осмолярного, кислотно-щелочного равновесия, а также важнейшие функции вязкости и текучести клеточных мембран, трансмембранного перехода макромолекул, являясь важной для организма константой в сохранении состояния динамического равновесия [3]. Кроме того, внеклеточный матрикс является значимой составляющей обобщенного понятия «регион микроциркуляции», во многом определяет механизмы развития патологического процесса на местном уровне и влияет на исходы воспалительных, деструктивных, неопластических и других процессов.

Вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования – изучить выраженность иммунобиохимических нарушений в патогенезе начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы с нормализованным внутриглазным давлением и оценить клинкопатогенетическую эффективность предлагаемого комплексного метода лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 120 пациентов с верифицированным, на основании офтальмологического обследования, включающего визометрию, стати-

ческую рефракцию, тонометрию по Маклакову, кинетическую и статическую периметрию, эхиомиетрию, доплерографию, биомикроскопию, гониоскопию, прямую и обратную офтальмоскопию и др., диагнозом начальной стадии ПОУГ. Определение порога электрической чувствительности сетчатки и лабильности зрительного нерва проводили с помощью электростимулятора офтальмологического микропроцессорного «ЭСКОМ» (МНПП «Нейрон», Уфа).

Количество мужчин составило 53 (44 %), женщин – 67 (56 %), средний возраст пациентов равнялся $54,9 \pm 3,1$ года. Все обследованные пациенты были с нормализованным ВГД, что достигалось консервативным лечением с использованием в большинстве случаев противоглаукоматозных препаратов группы бета-адреноблокаторов (0,5 % по 1 капле 2 раза в день), разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

Обследованные пациенты были разделены на 2 группы: 20 пациентов с начальной стадией ПОУГ, у которых было продолжено лечение с использованием стандартной схемы консервативной терапии, направленной на поддержание нормализованных значений ВГД, и 100 пациентов с начальной стадией ПОУГ, у которых было продолжено лечение с использованием стандартной схемы консервативной терапии, дополненной запатентованным методом лечения [7]. Метод основан на введении комплекса лекарственных препаратов (оригинальная рецептура, включающая анестетик, пептидный биорегулятор, синтетический нейропептид, антиоксидант) в регион микроциркуляции на стороне пораженного органа (путем инъекции в проекцию крылонебной ямки). В качестве нормативных значений определяемых в настоящем исследовании показателей слезной жидкости были использованы данные, полученные в Новосибирском филиале ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России при обследовании 20 «практически здоровых» доноров аналогичного возраста.

Выраженность процессов перекисного окисления липидов на местном уровне определяли по концентрации в слезной жидкости продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-ПП) [16]. Концентрацию сульфгидрильных групп (SH-групп), позволяющих судить о содержании в слезной жидкости водорастворимых SH-содержащих антиоксидантов (цистеин, глутатион и др.), определяли по реакции с 5,5-дитиби-2-нитробензойной кислотой [23]. С помощью метода ИФА на коммерческих тест-системах по инструкции производителя в слезной жидко-

сти измеряли содержание трансформирующего фактора роста $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$) – цитокина, обладающего выраженной пролиферативной и противовоспалительной активностью (DRG-diagnostics, Германия), матричной металлопротеиназы 9 (ММР-9) – представителя семейства внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать белки внеклеточного матрикса и участвующих в процессах пролиферации, апоптозе, регуляции синтеза цитокинов (CUSABIO, КНР), интерлейкинов ИЛ-1 β , основного провоспалительного цитокина, повышение концентрации которого связано с активацией иммунного ответа по Т-хелперному пути 1 типа, процессов воспаления, апоптоза и др., и ИЛ-4, цитокина, способного активировать Т-хелперный ответ 2 типа, обладающего противовоспалительными свойствами, являющегося активатором гуморального звена иммунной системы и участвующего в развитии аутоиммунного реагирования (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург), аутоантител к антигенам нативной ДНК (ААТ к АГ нДНК), являющихся универсальным маркером клеточной деструкции («ДНК-ТЕСТ», ПМЦ «СибНИРкомплект», Новосибирск). Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм. Определенные уровни содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), интегрального показателя активации гуморального звена иммунной системы в слезной жидкости проводили методом жидкостной преципитации в 7,5 % полиэтиленгликоле-6000 на 0,01М боратном буфере, рН 8,4.

Полученные цифровые данные подвергнуты статистическому анализу и представлены в таблицах в виде $M \pm t$, где M – среднее арифметическое, t – ошибка среднего. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем вероятности 95 % ($p < 0,05$). У всех пациентов было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях и согласие этического комитета на проведение исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований получены данные, представленные в табл. 1. Их анализ позволяет сделать заключение, что в патогенезе начальной стадии ПОУГ с нормализованным давлением значимую роль играет повышение концентраций биологически активных субстанций (ТБК-РП, ИЛ-1 β , ММР-9, ААТ к АГ

Таблица 1

Значения изучаемых показателей в слезной жидкости пациентов с начальной стадией ПОУГ с нормализованным ВГД ($M \pm t$)

Показатель (содержание)	Норма, $n = 20$	ПОУГ, $n = 120$
ТБК-РП, нмоль/л	3,07 \pm 0,19	5,25 \pm 0,16*
SH-группы, мкмоль/л	0,72 \pm 0,03	0,41 \pm 0,02*
ИЛ-1 β , пг/мл	16,2 \pm 3,4	60,7 \pm 5,1*
ИЛ-4, пг/мл	14,9 \pm 3,1	19,2 \pm 2,0
TGF- $\beta 2$, пг/мл	672 \pm 35	3863 \pm 489*
ММР-9, нг/мл	0,50 \pm 0,07	1,08 \pm 0,15*
ААТ к АГ нДНК, усл. ед.	0,47 \pm 0,03	0,85 \pm 0,11*
ЦИК, усл. ед.	25,1 \pm 3,2	58,1 \pm 3,5*

* Отличие от соответствующей нормативной величины статистически значимо при $p < 0,05$.

нДНК), способных активировать развитие воспалительно-деструктивного и аутоиммунного процессов и, как следствие этого, вызывать поражение органа зрения, а в конечном итоге – слепоту. Кроме того, длительная циркуляция низкомолекулярных ЦИК может приводить к их осаждению на эндотелиальных клетках, вызывая дальнейшее развитие иммунного воспаления.

Указанные процессы происходят вне зависимости от того, с чем связано появление биологически активных субстанций, обладающих выраженным воспалительно-деструктивным потенциалом (нарастание ВГД, приводящее к клеточной деструкции и выходу токсических продуктов распада, нарушение микроциркуляции в органе зрения, развивающиеся на фоне изменений в сосудистом русле организма, первичная дискоординация метаболических процессов в глазу) и способных запускать порочный круг развития патологического процесса.

Значимым представляется установленное в исследовании повышение в слезной жидкости обследованных пациентов с начальной стадией ПОУГ содержание TGF- $\beta 2$, цитокина, обладающего выраженной пролиферативной активностью. Такое увеличение на начальных этапах заболевания, вероятно, носит компенсаторный характер в ответ на развитие воспалительно-деструктивного процесса, однако способность TGF- $\beta 2$ активировать процессы фиброза является одним из патогенетически значимых факторов в развитии ПОУГ.

Таким образом, нормализация внутриглазного давления не способна полностью предотвратить развитие заболевания, а в механизмах прогрессии ПОУГ значимую роль играет выраженность воспалительно-деструктивного процесса, во многом

Таблица 2

Значения изучаемых показателей в слезной жидкости пациентов с начальной стадией ПОУГ с нормализованным ВГД в зависимости от схемы лечения ($M \pm t$)

Показатель (содержание)	Стандартная схема лечения, $n = 20$		Комбинированная схема лечения, $n = 100$	
	1 день	10 день	1 день	10 день
ИЛ-1 β , пг/мл	60,7 \pm 5,1	65,1 \pm 7,6	60,7 \pm 5,1	31,6 \pm 4,6*
ИЛ-4, пг/мл	19,2 \pm 2,0	18,7 \pm 3,2	19,2 \pm 2,0	15,4 \pm 2,2
ТБК-РП, нмоль/л	5,25 \pm 0,16	5,18 \pm 0,17	5,25 \pm 0,16	4,64 \pm 0,15*
SH-группы, мкмоль/л	0,41 \pm 0,02	0,43 \pm 0,04	0,41 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02*
АТ к АГ нДНК, усл. ед.	0,85 \pm 0,11	0,90 \pm 0,15	0,85 \pm 0,11	0,92 \pm 0,11
ЦИК, усл. ед.	58,1 \pm 3,5	52,1 \pm 6,8	58,1 \pm 3,5	43,0 \pm 4,8*

* Отличие от величины соответствующего показателя на 1 день терапии статистически значимо при $p < 0,05$.

определяющего активность глаукомы. В пользу представленного заключения свидетельствуют работы, в которых показано, что активация процессов свободнорадикального окисления, синтеза провоспалительных цитокинов, снижение антиоксидантного потенциала играют значимую роль в развитии апоптоза и феномена эксайтотоксичности. Кроме того, известна способность ИЛ-1 β стимулировать секрецию латентных металлопротеиназ и плазминогена, превалирование синтеза которых приводит к нарастанию деструктивных процессов, повышенному разрушению матрикса соединительной ткани или снижению ее восстановления. В то же время избыточная экспрессия рецепторов к TGF- β , связываемая рядом автором с активным синтезом провоспалительных цитокинов, приводит к повышенной продукции фибронектина и к фибротическим изменениям тканей глаза, играя значимую роль в развитии глаукоматозного процесса [12, 14, 15, 18, 20, 21, 26].

Следующим этапом настоящего исследования была оценка влияния предложенного нами комплексного метода лечения на активность иммунновоспалительного процесса. Из общего количества обследованных лиц было отобрано 20 пациентов (1-я группа), у которых через 10 дней на фоне продолжающегося консервативного лечения было проведено повторное тестирование ряда изучаемых иммунобиохимических показателей в слезной жидкости. В обобщенном виде данные представлены в табл. 2.

В качестве офтальмологических методов обследования, позволяющих оценить динамику развития клинических изменений, течения патологического процесса, были выбраны следующие: кинетическая периметрия, статическая пороговая периметрия центрального поля зрения по программе 30-2, порог электрической чувствитель-

ности и лабильности зрительного нерва, острота зрения. У пациентов с диагнозом начальная стадия ПОУГ при первом обследовании величина полей зрения составила $435,2 \pm 7,2^\circ$, через 10 дней – $432,4 \pm 8,8^\circ$, полученные значения показателя достоверно не различались ($p > 0,05$). Также не изменилась световая чувствительность центральных отделов сетчатки (при первом обследовании – 1628 ± 36 ДБ, на 10 день наблюдения – 1682 ± 61 ДБ, $p > 0,05$) и лабильность зрительного нерва (соответственно $35,2 \pm 1,51$ и $36,1 \pm 2,4$ Гц, $p > 0,05$). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии достоверной динамики изменений изучаемых показателей, позволяя сделать вывод о том, что использование стандартной схемы медикаментозного лечения, направленного на снижение и стабилизацию ВГД, не влияет на активность иммунновоспалительного процесса и функциональное состояние органа зрения.

Следующим этапом исследования была оценка влияния запатентованного метода лечения, основанного на том, что пациентам 2-й группы на фоне стандартной схемы консервативной терапии ежедневно вводили в область региона микроциркуляции, в проекцию крылонебной ямки, лекарственную смесь курсом 8 процедур. В результате проведенных исследований в этой группе пациентов получены данные, представленные в табл. 2.

Клинико-офтальмологическое обследование пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы после комплексной консервативной терапии позволило зафиксировать следующее. У пациентов с диагнозом начальная стадия ПОУГ до лечения величина полей зрения составляла $435,2 \pm 7,2^\circ$, после проведения комплексной консервативной терапии она увеличилась до $474,5 \pm 5,07^\circ$, что было достоверно выше значения показателя до лечения ($p < 0,05$). Све-

товая чувствительность сетчатки центральных отделов, до проведения лечебных мероприятий составлявшая 1628 ± 36 ДБ, после проведения курса комплексной консервативной терапии стала достоверно выше (1888 ± 42 ДБ, $p < 0,05$), также увеличилась лабильность зрительного нерва ($c 35,2 \pm 1,51$ до $39,1 \pm 1,4$ Гц, $p < 0,05$).

Таким образом, проведенное исследование позволило показать эффективность и патогенетическую обоснованность использования предлагаемого метода комплексной консервативной терапии, основанного на введении в область региона микроциркуляции на стороне пораженного органа (в проекцию крылонебной ямки) комплекса лекарственных препаратов, в начальной стадии ПОУГ с нормализованным ВГД, так как его применение приводит к снижению активности иммуновоспалительного процесса, что проявляется в достоверном снижении в слезной жидкости обследованных пациентов содержания маркеров активности воспалительного процесса: ТБК-РП, основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и интегрального показателя активации гуморального звена иммунной системы – ЦИК, а также к улучшению функционального состояния органа зрения.

Безусловно, использование комплексного консервативного метода лечения ПОУГ с нормализованным давлением не возвращает изучаемые клиничко-лабораторные показатели к норме и не разрывает порочный круг развития патологического процесса, однако за счет снижения активности иммуновоспалительного процесса на фоне нормативных значений ВГД позволяет несколько повысить и сохранить зрительные функции более продолжительное время.

Для оценки отдаленных эффектов проводимой комплексной консервативной терапии проведено индивидуальное клиничко-офтальмологическое наблюдение за пациентами с контрольным обследованием через 1 год, которое показало, что в результате использования предлагаемого метода лечения уменьшается степень нарастания клинических проявлений ПОУГ при сравнении с пациентами, получавшими стандартную схему лечения, однако полученные факты требуют дальнейшего изучения и подтверждения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бородин Ю.И., Любарский М.С., Ефремов А.В. Патогенетические подходы к лимфокоррекции в клинике. Новосибирск, 1997. 183 с.
2. Бородин Ю.И., Труфакин В.А., Любарский М.С., Ефремов А.В. Очерки по клинической лимфологии. Новосибирск, 2001. 191 с.
3. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Любарский М.С. Лимфология. Новосибирск, 2011. 566 с.
4. Дружинин И.Б., Братко В.И., Кулаков А.В. и др. Коррекция экссудативно-воспалительных осложнений после энергетических методов удаления катаракты у больных сахарным диабетом // Вестн. новых медицинских технологий. 2006. 13. (4). 37–39.
5. Егоров Е.А., Алексеев В.Н., Мартынова Е.Б. и др. Патогенетические аспекты лечения первичной открытоугольной глаукомы. М., 2001. 118 с.
6. Любарский М.С., Смагин А.А., Морозов В.В. Реализация концепции многоуровневой лимфодетоксикации в клинической практике // Бюл. СО РАМН. 2001. (4). 110–113.
7. Пат. № 2284192 РФ. Способ лечения глаукомной оптической нейропатии / Черных В.В., Чехова Т.А., Братко В.И. и др.; опублик. 27.09.2006.
8. Черных В.В., Братко В.И., Лыиков А.Г., Трунов А.Н. Влияние эфферентных и лимфотропных технологий на течение патологического процесса при диабетической ретинопатии // Офтальмохирургия. 2008. (3). 4–7.
9. Черных В.В., Шваюк А.П., Горбенко О.М. и др. Особенности патогенеза начальной и развитой стадии первичной открытоугольной глаукомы // Аллергол. иммунол. 2006. (1). 28–31.
10. Черных В.В., Смирнов Е.В., Братко В.И., Трунов А.Н. Активность местного иммуновоспалительного процесса при регматогенной отслойке сетчатки и его коррекция // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2011. (6). 107–112.
11. Черных В.В., Ходжаев Н.С., Тахчиди Е.Х. и др. Особенности патогенеза начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы, значимость иммуновоспалительного процесса // Офтальмохирургия. 2011. (2). 50–53.
12. Baltmr A., Duggan J., Nizari S. et al. Neuroprotection in glaucoma – Is there a future role? // Exp. Eye Res. 2010. 91. (5). 554–566.
13. Huang P., Zhang S.S., Zhang C. Erratum: The two sides of cytokine signaling and glaucomatous optic neuropathy // J. Ocul. Biol. Dis. Infor. 2009. 2. (3). 98–103.
14. Huang P., Qi Y., Xu Y.S. et al. Serum cytokine alteration is associated with optic neuropathy in human primary open angle glaucoma // J. Glaucoma. 2010. 19. (5). 324–330.
15. Kelley M.J., Rose A.Y., Song K. Synergism of TNF and IL-1 in the induction of matrix metalloproteinase-3 in trabecular meshwork // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2007. 48. (6). 2634–2643.
16. Ko M.L., Peng P.H., Hsu S.Y. et al. Dietary deficiency of vitamin E aggravates retinal ganglion cell death in experimental glaucoma of rats // Curr. Eye Res. 2010. 35. (9). 842–849.

17. Luo C., Yang X., Kain A.D. et al. Glaucomatous tissue stress and the regulation of immune response through glial Toll-like receptor signaling // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (11). 5697–5707.
18. Malvitte L., Montange T., Vejux A. et al. Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs // Br. J. Ophthalmol. 2007. 91. (1). 29–32.
19. Ray K., Mookherjee S. Molecular complexity of primary open angle glaucoma: current concepts // J. Genet. 2009. 88. (4). 451–467.
20. Saccà S.C., Izzotti A. Oxidative stress and glaucoma: injury in the anterior segment of the eye // Prog. Brain Res. 2008. 173. 385–407.
21. Shifera A.S., Trivedi S., Chau P. et al. Constitutive secretion of chemokine by cultured human trabecular meshwork cells // Exp. Eye Res. 2010. 91. (1). 42–47.
22. Tezel G. The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009. 50. (3). 1001–1012.
23. Wayner D.D.M. Radical-trapping antioxidant in vitro and vivo // Bioelectrochem. Bioenerg. 1987. 18. (1–3). 219–229.
24. Xu S.L., Gao Z.Z., Wang Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase and inhibitor on the scleral tissue of lamina cribrosa in rat with experimental chronic ocular hypertension // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 2009. 45. (3). 260–265.
25. Xu J.J., Sun X.H. The influence of glaucoma filtration surgery on anterior chamber associated immune deviation in mice // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 2009. 45. (1). 32–37.
26. Yu A.L., Birke K., Moriniere J. et al. TGF-beta2 induces senescence-associated change in human trabecular meshwork cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (11). 5718–5723.

PECULIARITIES OF PATHOGENESIS OF PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA WITH NORMALIZED INTRAOCULAR PRESSURE, NEW APPROACHES TO THE INTEGRATED TREATMENT

Valery Vyacheslavovich CHERNYKH¹, Nazrulla Sagdullaevich KHODJAYEV³, Aleksandr Nikolaevich TRUNOV^{1,2}, Alja Petrovna SHVAYUK², Olga Mikhailovna GORBENKO², Olga Viktorovna ERMAKOVA¹, Vladimir Ivanovich BRATKO¹, Igor Dmitrievich SAFRONOV²

¹ *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch 630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

² *Research Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS 630117, Novosibirsk, Timakova str., 2*

³ *The academician S.N. Fyodorov Federal State Institution «Intersectoral Research and Technology Complex «Eye microsurgery» Ministry of Health of the Russian Federation» 127486, Moscow, Beskudnikovsky Boulevard, 59a*

It has been shown that the activity of local inflammatory process was revealed in patients with the initial stage of primary open angle glaucoma (POAG) with normalized intraocular pressure (IOP). This suggests that the normalization of IOP is not able to prevent completely the disease development and that the inflammatory process intensity largely determining the glaucoma activity plays the important role in the mechanisms of progression of POAG. The treatment method application based on the drugs complex introduction into the microcirculation region on the side of the affected organ leads to the inflammatory activity reduction and the visual organ functional state improvement.

Key words: glaucoma, inflammation, cytokines, lipid peroxidation, treatment.

Chernykh V.V. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Khodjayev N.S. – doctor of medical sciences, professor, head of the center for scientific and clinical working with affiliates, e-mail: nskhodjaev@mail.ru

Trunov A.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director, head of the laboratory of immunology, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Shvayuk A.P. – candidate of biological sciences, senior researcher

Gorbenko O.M. – candidate of biological sciences, senior researcher

Ermakova O.V. – ophthalmologist

Bratko V.I. – doctor of medical sciences, head of department

Safronov I.D. – doctor of medical sciences, professor, leading researcher

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИСТАТИНА С И ЦИСТАТИНА SN В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ КАК ВОЗМОЖНЫХ МАРКЕРОВ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Мария Андреевна ДИКОВСКАЯ¹, Александр Николаевич ТРУНОВ^{1,2},
Ольга Николаевна КУЛЕШОВА¹, Константин Валерьевич ЛОКТЕВ³,
Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ¹, Любомир Иванович АФТАНАС³,
Татьяна Александровна КОРОЛЕНКО³

¹ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ ФГБУ НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

Цель исследования – определение концентрации цистатина С и цистатина SN как возможных биомаркеров опухолевого процесса в различных биологических жидкостях больных с объемными внутриглазными образованиями. С помощью иммуноферментного метода определена концентрация цистатина С и цистатина SN в сыворотке крови, слезе и внутриглазной жидкости у пациентов с меланомой хориоидеи, псевдотуморозной формой возрастной макулодистрофии и у здоровых добровольцев (контроль). Выявлено увеличение концентрации цистатина С и уменьшение концентрации цистатина SN во всех исследуемых биологических жидкостях у пациентов как с меланомой хориоидеи, так и с возрастной макулодистрофией в сравнении с контролем.

Ключевые слова: цистатин С, цистатин SN, меланома хориоидеи, слеза, внутриглазная жидкость.

Цистатины – группа эндогенных ингибиторов цистеиновых протеаз, открытая около 20 лет назад, биологическая роль которых активно исследуется в последние годы. Основная функция цистатинов чрезвычайно важна для регулирования физиологических процессов, связанных с внутри- и внеклеточным протеолизом, они ограничивают потенциально повреждающую деятельность цистеиновых протеаз. Цистатин С – низкомолекулярный белок, обнаруженный в различных типах клеток (макрофагах, гепатоцитах и др.), является эффективным и наиболее изученным эндогенным ингибитором цистеиновых протеаз – катепсинов В, L, H, S и K [2, 3, 15]. Согласно современной классификации, наряду с цистатинами S, SA, SN и D он относится ко 2-му типу семейства цистатинов [2, 8], локализован преимущественно вне клетки и

обнаружен во всех биологических жидкостях человека. Наиболее высокое содержание цистатина С отмечено в спинно-мозговой жидкости, менее значительное – в сыворотке крови и существенно более низкое – в моче, слезе, ротовой жидкости, молоке [7, 15]. В тканях высокая концентрация этого ингибитора обнаружена в головном мозге [10].

В настоящее время изучается биологическая роль цистатина С в норме и при ряде заболеваний человека, включая сердечно-сосудистые [1, 15], онкологические [2, 5, 13], диабет [14]. Цистатин С предложено использовать в клинике для выявления ранних нарушений почек в качестве нового показателя скорости клубочковой фильтрации [2, 3, 15], причем оценка его содержания находит все более широкое применение по сравнению с опре-

Диковская М.А. – зав. офтальмологическим отделением, врач-офтальмолог, e-mail: dikovskayam@mail.ru
Трунов А.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, руководитель лаборатории иммунологии, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Кулешова О.Н. – д.м.н., проф., офтальмолог

Локтев К.В. – научный сотрудник

Черных В.В. – д.м.н., проф., директор, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Афтанас Л.И. – академик РАН, директор

Короленко Т.А. – д.м.н., проф., зав. лабораторией, e-mail: t.a.korolenko@physiol.ru

делением концентрации креатинина в сыворотке крови [1, 2]. Все возрастающее число работ посвящено исследованию цистатина С как возможного маркера ряда опухолей человека [1–6, 10]. Цистеиновые протеазы (катепсин L и др.) участвуют в деградации внеклеточного матрикса, способствуя росту, инвазии и метастазированию опухолевых клеток, а также участвуют в ангиогенезе опухоли [4, 5, 8, 15]. Нарушения регуляции активности катепсинов В и L коррелируют с повышенной экспрессией ряда цистатинов, включая цистатин С [11, 13]. У пациентов с колоректальным раком высокий уровень внеклеточных ингибиторов сопряжен с уменьшением продолжительности жизни пациентов, что позволяет предполагать их канцерогенную роль в прогрессировании этого заболевания [17]. Полагают, что у пациентов со злокачественными новообразованиями уровень сывороточного цистатина С коррелирует с прогрессированием заболевания, а не только с клубочковой скоростью фильтрации [1]. Повышение его содержания в сыворотке крови и в тканях опухоли обнаружено у больных раком простаты [10], неходжкинской В-клеточной лимфомой [12], раком молочной железы и пр. [4, 6, 16].

Менее изучен по сравнению с цистатином С цистатин SN, ингибирующий большее количество цистеиновых протеаз (катепсинов В, Н и L), вовлеченных в развитие опухолей. Повышение концентрации цистатина SN в моче при колоректальном раке может служить новым маркером этого заболевания [17]. Высокая экспрессия цистатина SN в опухоли коррелирует с развитой стадией при раке желудка. Полагают, что активность ингибиторов цистеиновых протеаз связана с инвазией и метастазированием опухолевых клеток [9]. Показано, что цистатин SN оказывает нейтрализующее действие на ингибирующий эффект цистатина С в отношении активности катепсина В [9]. Это интересное взаимодействие ингибиторов изучено недостаточно. Пациенты с плоскоклеточным раком пищевода, у которых повышена экспрессия цистатина SN, имеют лучший прогноз выживаемости, что позволило предложить ее как независимый показатель выживания [6].

Несмотря на огромный прогресс в развитии и внедрении в клинику глазных болезней современных высокотехнологичных диагностических методов в последние десятилетия, вопросы дифференциальной диагностики злокачественных опухолей органа зрения остаются нерешенными. Опухоли и симулирующие их заболевания нередко имеют сходную клиническую картину, как, собственно, и опухоли различного происхождения. Особенностью обследования пациента

в офтальмоонкологии является то обстоятельство, что диагноз, как правило, устанавливается на основании визуальной клинической картины и ультразвукового сканирования, без возможности проведения гистологического исследования новообразования. Поиск новых объективных маркеров такой часто встречающейся и тяжелой патологии как меланома хориоидеи является чрезвычайно актуальным.

Цель работы – определение концентрации цистатина С и цистатина SN как возможных маркеров опухолевого процесса в различных биологических жидкостях пациентов с меланомой хориоидеи (МХ) и псевдотуморозной формой возрастной макулодистрофии (ВМД).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Основную группу обследованных составили 57 пациентов, проходивших обследование и лечение в Новосибирском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова с диагнозом МХ (36 женщин и 21 мужчина), в возрасте от 28 до 80 лет ($56,6 \pm 2,4$ года). Во всех случаях процесс носил односторонний характер. В связи с большим размером опухоли 17 пациентам выполнена операция энуклеация глазного яблока с последующей морфологической верификацией диагноза, 40 человек направлены на органосохранную операцию. Во вторую группу вошли 15 пациентов с псевдотуморозной формой ВМД (6 мужчин и 9 женщин) в возрасте от 42 до 89 лет ($68,0 \pm 1,8$ года). Дистрофический процесс носил двусторонний характер. По показаниям пациентам проводили консервативное медикаментозное лечение и динамическое наблюдение.

Диагноз устанавливали на основании комплексного обследования, включающего, кроме стандартного офтальмологического осмотра, офтальмобиомикроскопию с асферической высокодиоптрийной лупой 78 диоптрий, фотографирование глазного дна, комплексное ультразвуковое исследование, по показаниям – флуоресцентную ангиографию и оптическую когерентную томографию сетчатки. Всем больным проводили общеклиническое обследование: сбор анамнестических данных, сопутствующих заболеваний, полный общий анализ крови и мочи, определение уровня глюкозы в крови, рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Все пациенты с подозрением на онкологический процесс были осмотрены онкологом для исключения опухоли неглазной локализации и наличия метастазов МХ. Критерием исключения из исследования явилось наличие у пациента тяжелой почечной патологии,

злокачественной гипертонической болезни и тяжелых сердечно-сосудистых нарушений.

Группу контроля составили 37 здоровых добровольцев (медицинский персонал клиники и студенты Новосибирского государственного медицинского университета в возрасте от 20 до 49 лет ($31,0 \pm 4,1$ года) и 7 пациентов (3 мужчин и 4 женщины) с возрастной неосложненной катарактой в возрасте от 57 до 80 лет ($71,0 \pm 2,6$ года).

Слезную жидкость для исследования набирали микроканюлей из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку в количестве 0,3–0,5 мл. Слезопродукцию стимулировали посредством механического раздражения рецепторных окончаний тройничного нерва в слизистой оболочке глаза. Для получения сыворотки крови забор крови осуществляли из локтевой вены по стандартной методике. Для исследования внутриглазной жидкости использовали влагу передней камеры глаза, которую у пациентов с внутриглазной меланомой забирали из энуклеированных глаз, а у пациентов контрольной группы – во время операции экстракции катаракты. Забор материала и все исследования проводили с информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Концентрацию цистатина С определяли методом ИФА с использованием коммерческих наборов Biovendor (Чехия) для количественного определения цистатина С человека. Концентрацию цистатина SN – методом иммуноферментного анализа для количественного определения цистатина SN с использованием коммерческих наборов Human Cystatin SN (CST1) Elisa Kit Cusabio (Китай).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью теста Краскела – Уоллеса для межгрупповых сравнений. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r). За достоверные принимали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе здоровых лиц наблюдали сходство в распределении цистатинов С и SN в биологических жидкостях: концентрация цистатина С в биологических жидкостях (в сыворотке крови, во внутриглазной жидкости и слезе) в сотни раз превышала концентрацию цистатина SN (см. таблицу). В сыворотке крови цистатина С содержится значительно больше, чем в слезе ($p = 0,0000$), и несколько больше, чем во внутриглазной жидкости ($p > 0,05$). Выявлена прямая корреляция между уровнем цистатина С у здоровых лиц в сыворотке крови и во внутриглазной жидкости ($r = 0,82$; $p = 0,023$). Концентрация цистатина SN в сыворотке крови была выше, чем в слезе ($p = 0,0001$) и во внутриглазной жидкости ($p = 0,0003$). Обнаружена обратная корреляционная взаимосвязь между концентрацией цистатина С и цистатина SN в сыворотке крови ($r = -0,78$; $p = 0,02$).

Выявлено достоверное увеличение концентрации цистатина С в сыворотке крови пациентов с МХ ($p = 0,0191$) и ВМД ($p = 0,009$) по сравнению

Таблица

Концентрация цистатина С и цистатина SN в биологических жидкостях разных групп наблюдения (нг/мл)

	Контроль	Меланома хориоидеи	ВМД
Цистатин С			
Слеза пораженного глаза	–	$441,7 \pm 14,5$ ($n = 53$)	$435,6 \pm 21,9$ ($n = 15$)
Слеза парного глаза	$287,5 \pm 20,0$ ($n = 44$)	$483,9 \pm 20,8^{***}$ ($n = 39$)	$449,5 \pm 35,2^{**}$ ($n = 5$)
Внутриглазная жидкость	$522,0 \pm 124,7$ ($n = 7$)	$552,5 \pm 54,2$ ($n = 15$)	–
Сыворотка крови	$809,9 \pm 146,8$ ($n = 12$)	$1023,5 \pm 78,9^*$ ($n = 22$)	$1696,0 \pm 268,9^*$ ($n = 7$)
Цистатин SN			
Слеза пораженного глаза	–	$0,61 \pm 0,12$ ($n = 14$)	$0,61 \pm 0,22$ ($n = 10$)
Слеза парного глаза	$0,70 \pm 0,15$ ($n = 21$)	–	–
Внутриглазная жидкость	$2,60 \pm 0,60$ ($n = 3$)	$1,43 \pm 0,12$ ($n = 4$)	–
Сыворотка крови	$3,12 \pm 0,32$ ($n = 8$)	$1,45 \pm 0,30^{**}$ ($n = 7$)	$1,39 \pm 0,43^*$ ($n = 10$)

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя в контроле статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

с контролем, при этом при ВМД она была больше, чем при МХ ($p = 0,0179$). В слезе больного глаза с меланомой хориоидеи уровень цистатина С имел тенденцию к повышению по сравнению с контролем и с концентрацией в слезе пациентов с ВМД (см. таблицу).

При сравнении концентрации цистатина С в пораженном и парном глазу различия обнаружены у пациентов с меланомой хориоидеи ($p < 0,02$) (см. таблицу). На непораженном глазу наблюдали более выраженное повышение. Достоверных различий в уровне цистатина С между глазами у пациентов с ВМД не было (дистрофический процесс, как правило, двусторонний). Выявлено, что концентрация цистатина С во внутриглазной жидкости больных МХ несколько выше, чем в контрольной группе (см. таблицу).

Концентрация цистатина SN в сыворотке крови и во внутриглазной жидкости пациентов с МХ ниже, чем у лиц контрольной группы ($p = 0,0038$), у больных с ВМД – только в сыворотке крови (см. таблицу). По содержанию цистатина SN в слезе обследованные разных групп не различались (см. таблицу).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концентрация цистатина С в сыворотке крови, слезе и внутриглазной жидкости здоровых лиц значительно превышает концентрацию цистатина SN. Наличие обратной корреляции между содержанием этих ингибиторов протеаз в сыворотке крови свидетельствует об их взаимосвязи. При развитии МХ и ВМД обнаружены реципрокные изменения – повышение концентрации цистатина С и снижение концентрации цистатина SN во всех исследованных биологических жидкостях, что позволяет сделать заключение о вовлечении их в патологический процесс как дистрофического, так и опухолевого характера.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Короленко Т.А., Филатова Т.Г., Черканова М.С. и др. Цистатины: регуляция цистеиновых протеаз и нарушения при опухолевых и воспалительных заболеваниях // Биомед. химия. 2008. 54. (2). 210–217.
2. Короленко Т.А. Цистатины – биологическая роль и нарушения в патологии // Вестн. РАМН. 2008. (4). 43–47.
3. Халикова Т.А., Короленко Т.А., Ильницкая С.И. Лизосомные катепсины В, L и D при развитии экс-

периментальных лейкозов мышей // Биомед. химия. 2009. 55. (5). 621–634.

4. Bobek L.A., Levine M.J. Cystatins inhibitors of cysteine proteinases // Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 1992. (3). 307–332.

5. Chen Y.F., Ma G., Cao X. et al. Overexpression of Cystatin SN positively affects survival of patients with surgically resected esophageal squamous cell carcinoma // BMC Surgery. 2013. 13:15. doi:10.1186/1471-2482-13-15.

6. Dikovskaya M., Trunov A., Chernykh V., Korolenko T. Cystatin C and lactoferrin concentrations in biological fluids as possible prognostic factors in eye tumor development // Int. J. Circumpolar Health. 2013. 72. 284–288.

7. Kay P., Yang Y.C., Paraoan L. Polarized secretion of Cystatin C from human fetal retinal pigment epithelium // ARVO Ann. Meet. Abstr. 2012. 53. 1604.

8. Keppler D. Towards novel anti-cancer strategies based on cystatin function // Cancer Lett. 2006. 235. 159–176.

9. Kim J-T., Lee S-J., Kang M. et al. Cystatin SN neutralizes the inhibitory effect of cystatin C on cathepsin B activity // Cell Death Dis. 2013. (4). e974. doi:10.1038/cddis.2013.485.

10. Kos J., Lah T.T. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer (review) // Oncol. Rep. 1998. 5. (6). 1349–1361.

11. Ladero J.M., Cardenas M.C., Ortega L. et al. Serum cystatin C: a non-invasive marker of liver fibrosis or of current liver fibrogenesis in chronic hepatitis C? // Ann. Hepatol. 2012. 11. (5). 648–651.

12. Mulaomerovic A., Halilbasic A., Cickusic E. et al. Cystatin C as a potential marker for relapse in patients with non-Hodgkin B-cell lymphoma // Cancer Lett. 2007. 248. 192–197.

13. Mussap M., Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 2004. 41. 467–550.

14. Sahakyan K., Lee K., Shankar A., Klein R. Serum cystatin C and the incidence of type 2 diabetes mellitus // Diabetologia. 2011. 54. (6). 1335–1340.

15. Turk V., Stoka V., Turk D. Cystatins: Biochemical and structural properties, and medical relevance // Front. Biosci. 2008. 13. 5406–5420.

16. Wegiel B., Jiborn T. et al. Cystatin C is down-regulated in prostate cancer and modulates invasion of prostate cancer cell via MAPK/Erk and androgen receptor pathways // PLoS One. 2009. 4. (11). e7953.

17. Yoneda K., Iida H., Endo H. et al. Identification of Cystatin SN as a novel tumor marker for colorectal cancer // Int. J. Oncol. 2009. 35. 33–40.

THE INVESTIGATION OF CYSTATIN C AND CYSTATIN SN AS POSSIBLE MARKERS OF EYE TUMOR DEVELOPMENT IN BIOLOGICAL FLUIDS

**Maria Andreevna DIKOVSKAYA¹, Aleksandr Nikolaevich TRUNOV^{1,2},
Olga Nikolaevna KULESHOVA¹, Konstantin Valerievich LOKTEV³,
Valery Vyacheslavovich CHERNYKH¹, Ljubomir Ivanovich Aftanas³,
Tatyana Aleksandrovna KOROLENKO³**

¹ *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630096, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

² *Research Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

³ *Institute of Physiology and Fundamental Medicine of SB RAMS
Novosibirsk, 630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

Objectives: to investigate the possible role of cystatin C and cystatin SN as potential biomarkers of eye tumor development in eye biological fluids locally and in serum. Serum, tear fluid and intraocular fluid samples obtained from the anterior chamber of eyes in patients with choroidal melanoma, pseudotumor form of age-related macular degeneration, and healthy volunteers were studied by enzyme immunoassay method. The increase of cystatin C concentration and the decrease of cystatin SN concentration were revealed in all biological fluids of examined patients: both with melanoma of the choroid and with age- macular degeneration.

Key words: cystatin C, cystatin SN, choroidal melanoma, tear, intraocular fluid.

Dikovskaya M.A. – ophthalmologist, head of the department for ophthalmology, e-mail: dikovskayam@mail.ru

Trunov A.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director for scientific work, head of the laboratory of immunology, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Kuleshova O.N. – doctor of medical sciences, professor, ophthalmologist

Loktev K.V. – researcher

Chernykh V.V. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Aftanas L.I. – academician of RAS, director

Korolenko T.A. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory, e-mail: t.a.korolenko@physiol.ru

ПОЛИМОРФИЗМ ПРОМОТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОВ МАТРИЧНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ (ММР2, ММР3, ММР9) ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛОДИСТРОФИИ СРЕДИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ЕВРОПЕОИДНОГО НАСЕЛЕНИЯ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Владимир Иосифович КОНЕНКОВ¹, Алла Владимировна ШЕВЧЕНКО¹,
Виктор Федорович ПРОКОФЬЕВ¹, Лилия Владимировна ДУДНИКОВА²,
Наталья Юрьевна КАШКИНА², Дмитрий Валерьевич ЧЕРНЫХ²

¹ ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза»
им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

Одним из основных звеньев патогенеза возрастной макулярной дегенерации (ВМД), наряду с процессами старения клеток сетчатки и расстройства зрительного цикла, являются дистрофические изменения в межклеточном матриксе. Поддержание нормального экстрацеллюлярного матрикса между эпителием сетчатки и мембраной Бруха происходит за счет регулирования активности матричных металлопротеиназ ММР-2, ММР-3, ММР-9. Поскольку регуляция экспрессии генов металлопротеиназ происходит прежде всего на транскрипционном уровне, мы провели анализ ассоциированности полиморфизма их промоторных регионов с развитием возрастной макулодистрофии. Материал и методы. Обследовано 52 пациента с ВМД и 49 лиц без ВМД. Полиморфизм промоторных регионов генов *ММР2* –1306 С→Т, *ММР3* –1171 5А→6А, *ММР9* –1562 С→Т исследовали методом рестрикционного анализа продуктов амплификации. Результаты и обсуждение. Выявлены возрастные особенности в распределении частот генотипов анализируемых генов, ассоциированные с риском развития ВМД. Кроме того, ассоциированность полиморфизма *ММР9* с патологией носит двоякий характер: в «младшей» возрастной группе генотип *ММР9* СС является фактором резистентности, а в «старшей» возрастной группе – фактором предрасположенности к заболеванию, что, вероятно, может свидетельствовать о непрямом характере связи между полиморфизмом ММР и ВМД. Таким образом, полученные нами пилотные данные свидетельствуют в пользу необходимости дальнейшего исследования ассоциированности полиморфизма матричных металлопротеиназ с ВМД и включения в анализ полиморфных позиций генов, продукты которых сопряженно вовлечены в процесс развития заболевания.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, полиморфизм генов, матричные металлопротеиназы.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – прогрессирующее дегенеративное заболевание макулярной области сетчатки, являющееся ведущей причиной потери центрального зрения у пожилых людей в развитых странах [20]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ее распространенность составляет 300 человек на

100 тысяч населения, 25–30 млн человек в мире страдает ВМД. В возрасте старше 40 лет заболевают 25–40 % населения, среди лиц старше 60 лет данная патология выявляется у 58 % [12]. В настоящее время проблема становится все более актуальной, так как, с одной стороны, возросшая продолжительность жизни человека во многих

Коненков В.И. – д.м.н., проф., академик РАН, руководитель лаборатории клинической иммуногенетики, директор, e-mail: konenkov@soramn.ru

Шевченко А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: shalla64@mail.ru

Прокофьев В.Ф. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: vprok@ngs.ru

Дудникова Л.В. – врач-офтальмолог

Кашкина Н.Ю. – врач-офтальмолог

Черных Д.В. – врач-офтальмолог

странах приводит к увеличению доли населения пожилого возраста, а с другой стороны, идет процесс «омоложения» заболевания вследствие внедрения в нашу жизнь все новых и новых компьютерных и телевизионных технологий.

Заболевание представляет собой хронический дистрофический процесс, при котором происходит поражение хориокапиллярного слоя хориоидеи, мембраны Бруха и слоя пигментного эпителия сетчатки [11]. Одним из основных звеньев патогенеза ВМД, наряду с процессами старения клеток сетчатки и расстройства зрительного цикла, являются дистрофические изменения в межклеточном матриксе, сопровождающиеся процессами воспаления и патологическим ангиогенезом [19]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) индуцирует формирование сосудов, в том числе усиливая пролиферацию и миграцию эндотелиоцитов и индуцируя синтез металлопротеиназ – ферментов, необходимых для инвазии новообразованных сосудов в окружающие ткани [8]. Показано, что поддержание нормального внеклеточного матрикса (коллагенов I и IV типов) между эпителием сетчатки и мембраной Бруха происходит за счет регулирования активности металлопротеиназ MMP-2, MMP-3, MMP-9 [10]. Поскольку регуляция экспрессии MMP происходит прежде всего на транскрипционном уровне, в промоторном регионе генов, и показаны полиморфизмы *MMP2* –1306 C→T, где аллельный вариант *C ассоциирован с высокой промоторной активностью, *MMP-9* –1562 C→T, где наличие минорного аллеля *T в генотипе обеспечивает высокую транскрипционную активность гена, полиморфизм *MMP3* –1171, обладающей высокой транскрипционной активностью при носительстве генотипа 5A5A [13, 17], мы провели анализ ассоциированности полиморфизма промоторных регионов генов металлопротеиназ с развитием ВМД.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследован 101 пациент (202 глаза), прошедший диагностическое обследование на базе Новосибирского филиала ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова в 2013 г. Все пациенты относились к представителям европеоидного населения РФ и идентифицировали себя и своих родителей как лиц русской национальности, длительное время проживающих на территории Сибири, языком общения которых является русский. Все пациенты в зависимости от наличия ВМД были разделены на 2 группы. В основную группу вошли 52 пациента (104 глаза), критерии включения – наличие диагноза ВМД и

возраст старше 60 лет. Количество женщин в обследованной группе составило 41 человек, мужчин – 11 человек, средний возраст – $64,19 \pm 1,03$ года. Группу сравнения составили 49 пациентов (98 глаз), критерии включения – отсутствие диагноза ВМД и возраст старше 60 лет. Количество женщин в группе – 44, мужчин – 5, средний возраст – $59,92 \pm 0,77$ года. Критерием исключения для обеих групп являлось: наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, глаукомы, увеита различной этиологии, полной осложненной катаракты, отслойки сетчатки, руброза радужки. Также из исследования исключались пациенты с сахарным диабетом, аутоиммунными и опухолевыми процессами любой локализации. Диагноз ВМД выставлен на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего визометрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, периметрию, оптическую когерентную томографию макулярной области. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике Новосибирского филиала ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. У всех пациентов получено информированное согласие на забор крови, а также использование данных исследования в научных целях.

Однонуклеотидный полиморфизм промоторного региона гена *MMP2* исследовали в позиции –1306 C→T, *MMP9* – в позиции –1562 C→T. Участки промоторного региона генов амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров [6], затем продукты амплификации подвергали гидролизу эндонуклеазами рестрикции BstXI для *MMP2* и SphI для *MMP9* («СибЭнзим», Новосибирск). Полиморфизм 5A6A *MMP3* –1171 анализировали с использованием специфичных праймеров и эндонуклеазы рестрикции TthI («СибЭнзим», Новосибирск) [21]. Электрофорез проводили в 2 % агарозном геле.

При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели, как частота встречаемости генов, генотипов, отношение шансов (OR) с расчетом 95 % доверительного интервала (OR, 95 % CI). Расчет величины OR проводили по методу Вульфа – Холдейна [1, 16], частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций (*f*) определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле: $f = n/N$, где *n* – количество раз встречаемости генотипа (комбинации), *N* – численность обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга [2]. Для повышения степени

выраженности взаимосвязи между количественными и качественными показателями применяли критерий λ Колмогорова – Смирнова. С помощью данного критерия мы определяли точку максимального расхождения между выборками по возрасту, которая может использоваться как критическая при разделении всех испытуемых на тех, у кого «есть заболевание», и тех, у кого «нет заболевания» [4, 5]. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность и двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц – РТМФ2 [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате исследования полиморфизма трех генов матричных металлопротеиназ *MMP2* (–1306), *MMP3* (–1171) и *MMP9* (–1562) у пациентов с ВМД относительно здоровых лиц аналогичного возраста установлено, что частоты их генотипов в сопоставляемых группах находятся в равновесии Харди – Вайнберга и достоверных различий частот генотипов в оппозиционных группах не наблюдается (табл. 1). Учитывая, что одним из факторов риска развития заболевания является возраст, все обследованные были разделены с помощью критерия Колмогорова – Смирнова на две возрастные группы: группу 1 «условно более молодых» (68 лет и младше) и группу 2 «более пожилых» (старше 68 лет) (табл. 2). В группе 1 выявлены статистически значимые различия в частотах генотипов *MMP9*. Генотип *MMP9* *CC*, ответственный за более низкий уровень экспрессии, достоверно реже встречается у пациентов более молодого возраста относительно здоровых лиц своей возрастной группы, а в старшей возрастной группе он является фактором риска

развития патологии (соответственно $OR = 0,43$; $p = 0,047$ и $OR = 5,60$; $p = 0,028$).

В группах «пожилых» пациентов с ВМД развитие болезни включены все три анализируемые матричные металлопротеиназы. У этих больных частота генотипа *MMP2* –1306 *CC*, ответственного за повышенный уровень экспрессии белка, увеличена и ассоциирована с патологией ($OR = 11,43$; $p = 0,0081$), а также статистически значимо повышена частота гетерозиготного генотипа гена *MMP3* ($OR = 16,00$; $p = 0,0009$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Семейство матричных металлопротеиназ (ММР) ответственно за деградирование компонентов внеклеточного матрикса и играет важную роль в физиологическом и патологическом ремоделировании тканей. Показана секреция ММР1, 2, 3 и 9 пигментным эпителием сетчатки и хориоидальными эндотелиальными клетками мембраны Бруха, причем ее выраженность у пациентов с ВМД и у здоровых лиц аналогичного возраста заметно различается [10]. Именно поэтому вызывает интерес полиморфизм промоторных регионов генов металлопротеиназ, регулирующих уровень их белкового продукта. На сегодняшний день ассоциированности полиморфизма промоторных регионов генов *MMP2*, *MMP3* и *MMP9* с макулодистрофией в мире посвящены единичные работы. Показано, что пациенты с ВМД и группой контроля не различаются по частоте генотипов *MMP2* *C–1306T* и *MMP3* *5A–11716A* [14, 15, 18], что подтверждено и в нашем исследовании. Единственные опубликованные на сегодняшний день данные регрессионного анализа показали, что генотип *MMP9* (–1562) *CC* увеличивал вероятность развития ВМД с небольшим значением отношения шансов. Данные закономерности со-

Таблица 1

Анализ частоты анализируемых генотипов у обследованных

Полиморфная позиция	Генотип	Пациенты с ВМД, N = 52, %	Пациенты без ВМД, N = 49, %	OR	95 % CI	РТМФ2
<i>MMP2</i> –1306	ТТ	8 (15,38)	8 (16,33)	0,93	0,32–2,71	1,0000
	ТС	14 (26,92)	18 (36,73)	0,63	0,27–1,48	0,3923
	СС	30 (57,69)	23 (46,94)	1,54	0,70–3,38	0,3221
<i>MMP3</i> –1171	5А5А	8 (15,38)	11 (22,45)	0,63	0,23–1,72	0,4480
	5А6А	32 (61,54)	25 (51,02)	1,54	0,70–3,39	0,3201
	6А6А	12 (23,08)	13 (26,53)	0,83	0,34–2,05	0,8182
<i>MMP9</i> –1562	СС	29 (55,77)	30 (61,22)	0,80	0,36–1,77	0,6869
	СТ	21 (40,38)	17 (34,69)	1,28	0,57–2,86	0,6815
	ТТ	2 (3,85)	2 (4,08)	0,94	0,13–6,95	1,0000

Таблица 2

Анализ частоты генотипов *MMP2*, *MMP3*, *MMP9* у пациентов с ВМД разных возрастных групп относительно здоровых

Полиморфная позиция	Генотип	Пациенты с ВМД, N = 52, %	Пациенты без ВМД, N = 49, %	OR	95 % CI	PTMF2
<i>MMP2</i> –1306, «молодые»	ТТ	4 (7,69)	7 (14,29)	0,50	0,14–1,83	0,3487
	ТС	10 (19,23)	18 (36,73)	0,41	0,17–1,01	0,0744
	СС	20 (38,46)	22 (44,90)	0,77	0,35–1,70	0,5494
<i>MMP2</i> –1306, «пожилые»	ТТ	4 (7,69)	1 (2,04)	4,00	0,43–37,11	0,3635
	ТС	4 (7,69)	0 (0,00)	9,19	0,48–175,24	0,1182
	СС	10 (19,23)	1 (2,04)	11,43	1,40–93,04	0,0081
<i>MMP3</i> –1171, «молодые»	5А5А	7 (13,46)	11 (22,45)	0,54	0,19–1,52	0,3015
	5А6А	19 (36,54)	24 (48,98)	0,60	0,27–1,33	0,2318
	6А6А	8 (15,38)	12 (24,49)	0,56	0,21–1,52	0,3201
<i>MMP3</i> –1171, «пожилые»	5А5А	1 (1,92)	0 (0,00)	2,88	0,11–72,48	1,0000
	5А6А	13 (25,00)	1 (2,04)	16,00	2,00–127,74	0,0009
	6А6А	4 (7,69)	1 (2,04)	4,00	0,43–37,11	0,3635
<i>MMP9</i> –1562, «молодые»	СС	19 (36,54)	28 (57,14)	0,43	0,19–0,96	0,0470
	СТ	15 (28,85)	17 (34,69)	0,76	0,33–1,77	0,6691
	ТТ	0 (0,00)	2 (4,08)	0,18	0,01–3,87	0,2329
<i>MMP9</i> –1562, «пожилые»	СС	10 (19,23)	2 (4,08)	5,60	1,16–27,01	0,0288
	СТ	6 (11,54)	0 (0,00)	13,84	0,76–252,57	0,0271
	ТТ	2 (3,85)	0 (0,00)	4,90	0,23–104,70	0,4954

хранялись и при делении на возрастные группы, причем наличие генотипа *MMP9* (–1562) *СС* являлось фактором риска развития ВМД в раннем возрасте (до 65 лет) (OR = 1,51; $p = 0,046$) [14].

В исследованной нами группе русских европеоидов выявлены достоверные возрастные различия по трем анализируемым генам. Кроме того, ассоциированность полиморфизма *MMP9* с патологией носит двоякий характер: в «младшей» возрастной группе генотип *MMP9* *СС* является фактором резистентности, а в «старшей» – фактором предрасположенности к заболеванию, что, вероятно, может свидетельствовать о непрямом характере взаимосвязи между полиморфизмом *MMP* и риском развития ВМД. Так, показано, что многие представители семейства *MMP* вовлечены в процессы васкулярного ремоделирования в качестве промитотических факторов, реализующих свой эффект посредством регулирования экспрессии иных факторов, таких как семейство VEGF [19]. Для *MMP-9*, например, доказана способность повышать биодоступность VEGF и тем самым индуцировать процесс неангиогенеза [7]. Выявленное нами значительное повышение в старшей возрастной группе частоты встречаемости гомозиготного варианта *СС* гена *MMP9*, тесно ассоциированного с уменьшением продук-

ции самого фермента, свидетельствует о том, что носители данного генотипа обладают врожденно обусловленной способностью к более низкой инвазии новых сосудов в ткани глаза и более низкой способностью к поддержанию коллагенов, входящих в состав экстрацеллюлярного матрикса в оптимальном состоянии. Такое ослабление способности тканей глаза к поддержанию процессов неангиогенеза на функционально оптимальном уровне, на наш взгляд, может приводить к развитию дистрофических процессов при возрастной макулодистрофии. Наряду с этим нами выявлено и значительное повышение в этой старшей возрастной группе частоты гомозиготного варианта *СС* гена *MMP2*, ассоциированного с высокой промоторной активностью гена при синтезе данного фермента, что свидетельствует о значительном разрегулировании функционирования внеклеточного матрикса у пожилых пациентов с таким комбинированным генотипом.

Таким образом, полученные нами практически пилотные данные свидетельствуют в пользу необходимости дальнейшего исследования ассоциированности полиморфизма матричных металлопротеиназ с ВМД с вовлечением в анализ полиморфных позиций генов, продукты которых участвуют в развитии заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение третье. Отношение шансов: понятия, вычисление и интерпретация // Укр. мед. журн. 2005. 46. (2). 113–119.
2. Вейр Б. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки. М., 1995. 400 с.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., 1999. 459 с.
4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л., 1978. 296 с.
5. Лашков К.В., Поляков Л.Е. Применение методов непараметрической статистики в научных медицинских исследованиях // Статистические методы исследования в медицине и здравоохранении. М., 1971. 32–92.
6. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. и др. Анализ полиморфизма генов матричных металлопротеиназ-2 и 9 у пациентов с ишемической болезнью сердца // Терапевт. арх. 2010. 82. (1). 31–35.
7. Bergers G., Brekken R., McMahon G. et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis // Nat. Cell. Biol. 2000. 2. 737–744.
8. Ferrara N., Gerber H.-P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors // Nat. Med. 2003. 9. 669–676.
9. Funahashi Y., Shawber C., Sharma A. et al. Notch modulates VEGF action in endothelial cells by inducing matrix metalloprotease activity // Vasc. Cell. 2011. 3. 2.
10. Hussain A.A., Lee Y., Zhang J.-J., Marshall J. Disturbed matrix metalloproteinase activity of Bruch's membrane in age-related macular degeneration // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011. 52. (7). 4459–4466.
11. Hyman L., Schachat A.P., He Q., Leske M.C. Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration. Age-Related Macular Degeneration Risk Factors Study Group // Arch. Ophthalmol. 2000. 118. (3). 351–358.
12. Klein R., Klein B.E.K., Lee K.E. et al. Changes in visual acuity in population over a 10-year period. The Beaver Dam Study // Ophthalmol. 2001. 108. 1757–1766.
13. Lamblin N., Bauters Ch., Hermant X. et al. Polymorphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease // J. Am. Coll. Cardiol. 2002. 40. (1). 43–48.
14. Liutkeviciene R., Lesauskaite V., Sinkunaite-Marsalkiene G. et al. The role of matrix metalloproteinases polymorphisms in age-related macular degeneration // Ophthalmic Genet. 2013. doi: 10.3109/13816810.2013.838274.
15. Ortak H., Demir S., Ateş Ö. et al. The role of MMP2 (–1306C>T) and TIMP2(–418G>C) promoter variants in age-related macular degeneration // Ophthalmic Genet. 2013. 34. (4). 217–222.
16. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? // Int. J. Epidemiol. 1993. 22. (6). 1189–1192.
17. Pollanen P., Lehtimäki T., Mikkelsen J. et al. Matrix metalloproteinase 3 and 9 gene promoter polymorphisms: joint action of two loci as a risk factor for coronary artery complicated plaques // Atherosclerosis. 2005. 180. 73–78.
18. Seitzman R.L., Mahajan V.B., Mangione C. et al. Estrogen receptor alpha and matrix metalloproteinase 2 polymorphisms and age-related maculopathy in older women // Am. J. Epidemiol. 2008. 167. 1217–1225.
19. Stone E.M. Macular degeneration // Annu. Rev. Med. 2007. 58. 477–490.
20. Swaroop A., Chew E.Y., Rickman C.B., Abecasis G.R. Unraveling a multifactorial late-onset disease: From genetic susceptibility to disease mechanisms for age-related macular degeneration // Annu. Rev. Genomic Hum. Genet. 2009. 10. 19–43.
21. Takahashi M., Haro H., Wakabayashi Y. et al. The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the human matrix metalloproteinase-3 gene // J. Bone Joint Surg. 2001. 83. 491–495.

POLYMORPHISM OF PROMOTER SITES OF MATRIX METALLOPROTEINASE GENES (*MMP2*, *MMP3*, *MMP9*) AT AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION AMONG REPRESENTATIVES OF SENIOR AGE GROUPS OF THE SIBERIA CAUCASIAN POPULATION

Vladimir Iosifovich KONENKOV¹, Alla Vladimirovna SHEVCHENKO¹,
Viktor Fedorovich PROKOF'EV¹, Liliya Vladimirovna DUDNIKOVA²,
Nataliya Yur'evna KASHKINA², Dmitri Valer'evich CHERNYKH²

¹ *Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

One of the basic parts of age-related macular degeneration (AMD) pathogenesis alongside with processes of ageing retinal cells and frustration of visual cycle are dystrophic changes in intercellular matrix. Maintenance of normal extra cellular matrix between cells epithelium and Bruch's membrane occurs due to regulation of metalloproteinase MMP-2, MMP 3, MMP9 activity. The analysis of association between MMP promoter genes polymorphism and AMD development has been carried out considering that regulation of MMP expression occurs first of all on the transcriptions level. Materials and methods. 52 patients with AMD were examined. The group of comparison was made by 49 people. Polymorphism of promoter genes *MMP 2 1306 C→T*, *MMP3-1171 5A→6A*, *MMP 9-1562 C→T* was investigated with restriction analysis of amplified products. Results and discussions. Age features in distribution of genotypes frequencies of the analyzed genes associated with risk of development AMD are revealed. Besides, the association of *MMP9* polymorphism with the pathology has the dual character: *MMP9 CC* genotype is the resistant factor in «younger» age group, but it is the factor of predisposition to disease in the «senior» age group. That probably can testify to indirect character of polymorphism association MMP with AMD. Thus, the received pilot data testify for the benefit of necessity of the further research of polymorphism matrix metalloproteinase associations with AMD and for inclusion into the analysis of polymorphic positions of the genes which products is connected are involved in the disease development.

Key words: Age-related macular degeneration, genes polymorphism, matrix metalloproteinase

Konenkov V.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, head of the laboratory of clinical immunogenetics, director, e-mail: konenkov@soramn.ru

Shevchenko A.V. – candidate of biologic sciences, senior researcher of laboratory for clinical immunogenetics, e-mail: shalla64@mail.ru

Prokof'ev V.F. – candidate of medical sciences, leading researcher of laboratory for clinical immunogenetics, e-mail: vprok@ngs.ru

Dudnikova L.V. – ophthalmologist

Kashkina N.Yu. – ophthalmologist

Chernykh D.V. – ophthalmologist

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *MYOC* У ПАЦИЕНТОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Динара Евгеньевна ИВАНОЩУК^{1,2}, Игорь Юрьевич БЫЧКОВ³,
Светлана Владимировна МИХАЙЛОВА¹, Наталья Александровна КОНОВАЛОВА⁴,
Алена Викторовна ЕРЕМИНА³, Мария Николаевна ПОНОМАРЕВА⁵,
Ольга Станиславовна КОНОВАЛОВА⁴, Михаил Иванович ВОЕВОДА^{1,2},
Аида Герасимовна РОМАЩЕНКО¹

¹ ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

² ФГБУ НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

³ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза»
им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

⁴ ГБОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия Минздрава России
625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54

⁵ ГБУ Курганский областной госпиталь для ветеранов войн
640014, г. Курган, ул. Перова, 59

Цель исследования – оценка возможной ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs12035719 (–1000C/G), rs2075648 (–83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) экзона 1 и rs2032555 (IVS2(+35G/A)) гена *MYOC* с развитием первичной открытоугольной глаукомы у пациентов европеоидного происхождения Западной Сибири. Материал и методы: генотипированы 251 неродственный пациент с первичной открытоугольной глаукомой и 303 неродственных индивида без признаков заболевания. Результаты и обсуждение. Показано, что rs12035719, rs2075648, rs2234926 не влияют на вероятность развития первичной открытоугольной глаукомы в исследованной группе пациентов, а носительство гетерозиготного генотипа G/A по полиморфизму rs2032555 гена *MYOC* коррелирует с повышенным риском развития этого заболевания. Полиморфизмы rs2075648 и rs2234926 гена *MYOC* в обследованных выборках оказались в полном неравновесии по сцеплению.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, однонуклеотидный полиморфизм, мультифакторальные заболевания, ген *MYOC*, генетическая предрасположенность, миоцилин.

Иванощук Д.Е. – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека¹, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний², e-mail: dinara2084@mail.ru

Бычков И.Ю. – врач-офтальмолог высшей категории, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Михайлова С.В. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru

Коновалова Н.А. – д.м.н., проф., зав. кафедрой офтальмологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, e-mail: doctork@bk.ru

Еремина А.В. – врач-офтальмолог, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Пономарева М.Н. – д.б.н., зам. начальника госпиталя по медицинской части, veteran-krgn@yandex.ru

Коновалова О.С. – к.м.н., руководитель филиала, e-mail: tumen_mntk@mail.ru

Воевода М.И. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярной генетики человека¹, чл.-кор. РАМН, директор², e-mail: mvoevoda@ya.ru

Ромашенко А.Г. – к.б.н., зав. межинститутским сектором молекулярной палеогенетики, e-mail: romasch@bionet.nsc.ru

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является хроническим нейродегенеративным заболеванием глаза, вызванным дегенерацией аксонов ганглиозных клеток сетчатки с последующей их гибелью. Это наиболее распространенная форма среди всех глауком и вторая причина слепоты и слепоты в мире [18]. Возникновение ПОУГ носит мультифакториальный характер, т. е. проявление заболевания зависит от различных факторов (возраст, сопутствующие заболевания, экология и т. д.) и генетической предрасположенности индивида [5]. Многократное увеличение доли лиц пожилого возраста среди пациентов свидетельствует о доминирующем влиянии процесса старения организма человека на проявление патологии [20]. Риск возникновения этого заболевания среди первого поколения потомков больных глаукомой до 9 раз выше по сравнению с популяцией [25]. Идентифицировать пусковой механизм развития ПОУГ пока не удалось, ее этиология остается неизвестной. Начальные стадии глаукомы трудно диагностируются, клиническая симптоматика проявляется после гибели значительной части ганглиозных клеток сетчатки (до 40 %) [23]. Многочисленные молекулярно-генетические исследования показали, что ПОУГ генетически гетерогенна, т. е. в формировании патологического фенотипа принимают участие различные гены и сочетания их аллелей, вовлеченные в регуляцию клеточной пролиферации, апоптоза, водно-солевого обмена, метаболизма фолиевой кислоты и многие другие процессы [19]. Выяснение молекулярно-генетических механизмов возникновения ПОУГ – путь к пониманию этиопатогенеза заболевания, выявлению предрасположенности у лиц группы риска, а в будущем – средство повышения эффективности проводимой терапии путем создания индивидуальных протоколов лечения.

Ранее идентифицирован ген *MYOC*, ответственный за развитие некоторых форм ПОУГ. Продуктом этого гена является белок миоцилин, относящийся к семейству ольфактомедин-доменов содержащих белков, которые играют важную роль в нейрогенезе [24]. Ген *MYOC* локализован на длинном плече первой хромосомы в позиции 1q24.3, имеет размер 17255 пар нуклеотидов, состоит из трех экзонов – 604, 126 и 782 пар оснований, кодирующих 504 аминокислотных остатка [6]. В полипептиде присутствуют 3 домена: миозин-подобный на N-терминальном конце, домен с протеолитическим сайтом расщепления во 2-м экзоне и ольфактомедин-подобный домен в С-терминальном конце [14]. *MYOC* экспрессируется в различных тканях органа зрения: аксонах ганглиозных клеток сетчатки, цилиарном теле,

склере, трабекулярной сети [10]. Полагают, что миоцилин в митохондриях трабекулярной сети выполняет проапоптотические функции [22].

Известно около 600 полиморфных вариантов гена *MYOC* [6]. Мутации в нем обуславливают от 3 до 5 % случаев возникновения ПОУГ [1]. Наиболее насыщен мутациями 3-й экзон гена *MYOC*, в меньшей степени – экзон 1, не обнаружено мутаций, связанных с заболеванием, в экзоне 2. К сожалению, патофизиология влияния мутантного белка до сих пор не известна, но есть предположение, что синтез мутантного миоцилина ведет к нарушению оттока внутриглазной жидкости через трабекулярную сеть, что приводит к повышению внутриглазного давления [14]. Большинство из обнаруженных замен в гене *MYOC*, ассоциированных с развитием заболевания, представляют собой мутации в его кодирующих частях с очень низким процентом встречаемости у пациентов. Априори, они не могут отражать то количество больных глаукомой пациентов, которое существует в мире [18]. В связи с этим представляется перспективным исследование распространенных однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в регуляторных частях гена: в промоторах, интронах, 3'-некодирующих участках для идентификации генетических вариантов, возможно, вовлеченных в формирование ПОУГ. Большая часть высокочастных ОНП гена *MYOC* локализованы именно в таких участках. Подобные ОНП потенциально могут влиять на количество кодируемого белка и его тканеспецифическую локализацию, тем самым предрасполагая к формированию патологического фенотипа. Интерес представляют интронные полиморфизмы, расположенные в регуляторных зонах и сайтах сплайсинга. Так, известно, что замены в интроне, ведущие к дефектам сплайсинга гена *NF1*, приводят к формированию фенотипа нейрофиброматоза 1-го типа [13], а интронные мутации гена *IKBKAP* – к развитию синдрома семейной дизавтономии (синдром Райли – Дея) [2].

Поскольку сведения относительно распространения полиморфных вариантов гена *MYOC* среди пациентов России фрагментарны, нами были исследованы 4 наиболее часто встречающиеся ОНП этого гена: два ОНП в промоторной зоне (–1000C/G (rs12035719) и –83g/a (rs2075648)), замена в 1-м экзоне, приводящая к изменению аминокислоты (Arg76Lys (rs2234926)) и в интроне 2 (IVS2(+35G/A)) (табл. 1).

Ранее обнаружена связь ОНП rs12035719 (–1000C/G) гена *MYOC* с быстрой прогрессией ПОУГ у пациентов США и Франции [3, 17]. Замена, находящаяся в промоторной части гена *MYOC*, rs2075648 (–83g/a), приводит к потере активности

Таблица 1

Характеристики исследованных ОНП гена *MYOC*

ОНП	Локализация	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена
rs12035719 (-1000C/G)	Промотор	C/G	–
rs2075648 (-83g/a)	Промотор	G/A	–
rs2234926 (Arg76Lys)	Экзон 1	G/A	Arg76Lys
rs2032555 (IVS2(+35G/A))	Интрон 2	G/A	–

промотора. Более того, показано, что во всех изученных азиатских этнических группах этот полиморфизм наследовался вместе с другой заменой, находящейся в экзоне 1 rs2234926 (Arg76Lys) [9, 19]. ОНП в позиции +35G/A (rs2032555) интрона 2 гена *MYOC* теоретически был предсказан как участник формирования альтернативного сайта сплайсинга [16].

Цель исследования – оценка возможной ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs12035719 (-1000C/G), rs2075648 (-83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) и rs2032555 (IVS2(+35G/A)) гена *MYOC* с развитием первичной открытоугольной глаукомы у пациентов европеодного происхождения Западной Сибири.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования построен по принципу «случай – контроль»: генотипированы 251 неродственный пациент с подтвержденным диагнозом ПОУГ (130 женщин и 121 мужчина, средний возраст $69,3 \pm 8,9$ года) и 303 неродственных индивида без признаков заболевания (140 женщин и 163 мужчины, средний возраст $75,1 \pm 8,4$ года). От всех участников до исследования получено письменное информированное согласие, исследование одобрено биоэтическими комитетами Новосибирского филиала ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» и ГБОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия. С целью верификации диагноза все участники исследования, представители европеодной расы, прошли полное офтальмологическое обследование с ис-

пользованием общепринятых методик в Новосибирском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» и офтальмологическом отделении Курганского областного госпиталя для ветеранов войн. Тяжелые системные заболевания органа зрения, диабетическая ретинопатия, увеиты, возрастная макулярная дегенерация, атрофия диска зрительного нерва являлись критериями исключения из исследования. Также из группы контроля были исключены лица с отягощенным семейным анамнезом по ПОУГ.

Поскольку по полиморфизмам rs12035719 (-1000C/G), rs2075648 (-83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) и rs2032555 (IVS2(+35G/A)) гена *MYOC* достоверных межполовых различий в частотах аллелей и генотипов не обнаружено, выборки мужчин и женщин были объединены.

Геномную ДНК выделяли из 10 мл венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции [21]. Генотипирование групп по исследуемым полиморфизмам rs12035719 (-1000C/G) и rs2032555 (IVS2(+35G/A)) гена *MYOC* выполнено методом ПЦР в реальном времени на приборе AB 7900HT с использованием зондов TaqMan (Applied Biosystems, США) согласно стандартному протоколу. Генотипирование по полиморфизмам rs2075648 (-83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизмов длины рестрикционных фрагментов ДНК (табл. 2). Размеры рестрикционных фрагментов оценивали с помощью электрофореза в 5%-м полиакриламидном геле после их визуализации в растворе бромистого этидия.

Таблица 2

Характеристики праймеров для проведения полимеразной цепной реакции по ОНП rs2075648 (-83g/a) и rs2234926 (Arg76Lys) гена *MYOC*

ОНП	Праймеры (5' => 3')	T_m , °C	Длина продукта (пар нуклеотидов)	Эндонуклеаза рестрикции
rs2075648	tcttgctggcagcgtg agctggattcattgggac	61	384	Ama87I
rs2234926	tgcaatgaggttcttctgtg tgggtttccagctggtc	61	405	BstMAI

Межгрупповое сравнение частот аллелей/генотипов каждого из изученных полиморфизмов рассчитывали с использованием точного критерия Фишера. Тест на соответствие выборок равновесию Харди – Вайнберга проводили с использованием метода χ^2 . Относительный риск ПОУГ по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов (OR, odds ratio) с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия χ^2 Пирсона. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты генотипирования по полиморфизмам rs12035719, rs2075648, rs2234926, rs2032555 гена *MYOC* лиц исследованных групп представлены в табл. 3. Два изучаемых ОНП – rs2075648 и rs2234926 – в выборках находятся в неравновесии по сцеплению, т.е. всегда передаются от ро-

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей по полиморфизмам rs12035719, rs2075648, rs2234926, rs2032555 гена *MYOC* у пациентов с ПОУГ и в контрольной группе

ОНП; генотип/аллель	Частота генотипа/ аллеля, % (n)		p
	ПОУГ, n = 251	Контроль, n = 303	
rs12035719			
G/G	84,9 (213)	81,2 (246)	> 0,05
G/C	13,1 (33)	17,5 (53)	> 0,05
C/C	2,0 (5)	1,3 (4)	> 0,05
G	91,4	89,9	> 0,05
C	8,6	10,1	> 0,05
χ^2_{HW}	6,48	0,35	
rs2075648/rs2234926			
G/G	76,9 (193)	75,9 (230)	> 0,05
G/A	21,9 (55)	22,4 (68)	> 0,05
A/A	1,2 (3)	1,7 (5)	> 0,05
G	87,8	87,1	> 0,05
A	12,2	12,9	> 0,05
χ^2_{HW}	0,17	0,00	
rs2032555			
A/A	48,2 (121)	58,1 (176)	0,021
A/G	47,0 (118)	37,6 (114)	0,031
G/G	4,8 (12)	4,3 (13)	> 0,05
A	71,7	76,9	> 0,05
G	28,3	23,1	> 0,05
χ^2_{HW}	6,33	1,05	

Примечание. n – количество человек; χ^2_{HW} – соответствие распределения генотипов равновесию Харди – Вайнберга.

дителя к потомкам вместе. Для всех изученных ОНП в группе контроля, а также для rs2075648 и rs2234926 в группе пациентов с ПОУГ наблюдалось соответствие частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга. В группе пациентов с ПОУГ по ОНП rs12035719 и rs2032555 наблюдаемое распределение частот генотипов не соответствует теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди – Вайнберга.

При сравнении частот генотипов и аллелей между группами по полиморфизмам rs12035719, rs2075648 и rs2234926 гена *MYOC* нами не было получено статистически значимых различий. Частоты встречаемости гетерозиготного генотипа G/A по полиморфизму rs2032555 у пациентов с ПОУГ по сравнению с контролем достоверно различались: G/A vs G/G + A/A OR 1,471 (95 % доверительный интервал (95 % ДИ) 1,047–2,066), $p = 0,031$. Достоверно более высокая частота встречаемости гомозиготного генотипа AA наблюдалась в группе контроля по сравнению с группой с ПОУГ: A/A vs G/A+G/G OR 0,672 (95 % ДИ 0,480–0,941), $p = 0,021$ (см. табл. 3).

Таким образом, нами обнаружено, что гетерозиготные генотипы по rs2032555 гена *MYOC* достоверно чаще встречаются в выборке пациентов с ПОУГ по сравнению с контролем.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение частот ОНП rs12035719 (–1000C/G), rs2075648 (–83g/a) и rs2234926 (Arg76Lys) гена *MYOC* в выборках пациентов с ПОУГ и контрольной выборкой из популяции Западной Сибири не выявило статистически значимых отличий.

Связь промоторного полиморфизма rs12035719 (–1000C/G) гена *MYOC* и его негативное влияние на тяжесть течения ПОУГ показана для пациентов США и Франции без указания расовой принадлежности [3, 17], носительство аллеля G ассоциировано с повышенным внутриглазным давлением и более тяжелым течением заболевания преимущественно у мужчин [3]. Дальнейшие ассоциативные исследования в различных этнических группах пациентов с ПОУГ не подтвердили этот результат [8, 15, 11]. В данном исследовании мы не наблюдали межполовых различий между общей группой пациентов с ПОУГ и контролем в частотах аллелей ОНП и генотипов. Возможно, разница в полученных исследователями результатов объясняется различными критериями подбора групп пациентов. Наблюдаемое несоответствие ожидаемому распределению генотипов по ОНП rs12035719 (–1000C/G) гена *MYOC* может свидетельствовать о наличии отбо-

ра по определенным генотипам (см. табл. 3) либо о малом размере проанализированной нами группы пациентов с ПОУГ. Для прояснения причин данного несоответствия требуются дальнейшие исследования.

Между пациентами с ПОУГ и группой контроля достоверных различий в частотах генотипов и аллелей по полиморфизмам rs2075648 (–83g/a) и rs2234926 (Arg76Lys) гена MYOC не выявлено (см. табл. 3). Учитывая отсутствие литературных данных о положительной связи данных ОНП с развитием ПОУГ, мы предполагаем, что они, вероятнее всего, не участвуют в формировании предрасположенности к заболеванию. По нашим данным, два изучаемых ОНП находятся в полном неравновесии по сцеплению (всегда встречаются вместе) (см. табл. 3). Интересно отметить, что в азиатских популяциях (Китай, Япония), а также в Индии полиморфизмы rs2075648 (–83g/a) и rs2234926 (Arg76Lys) гена MYOC также наследуются сцепленно [19]. Сходные результаты получены для европеоидов Франции, но данные полиморфизмы не были полностью сцеплены в популяциях европеоидов Австралии и Айовы, а также у афроамериканцев Нью-Йорка [12, 4]. Очевидно, эти популяции отличаются наборами гаплотипов по генам, участвующим в формировании фенотипа ПОУГ. Таким образом, при анализе ассоциации генотипов с заболеванием необходимо учитывать расовую принадлежность пациентов.

Достоверно связан с развитием ПОУГ в исследованной нами группе пациентов полиморфизм rs2032555 гена MYOC. Носительство гетерозиготного генотипа G/A увеличивает риск развития ПОУГ, а носительство гомозиготного генотипа A/A, наоборот, оказывает протективный эффект. Наблюдаемое несоответствие равновесию Харди–Вайнберга по данному локусу, вероятнее всего, указывает на наличие отбора по этому ОНП (см. табл. 3). Возможно, селекция по rs2032555 (IVS2(+35G/A)) гена MYOC внутри группы пациентов с ПОУГ обусловлена наличием других ОНП, сцепленных с этим локусом. Показано, что гаплотип, содержащий минорный аллель G по данному полиморфизму IVS2+35G/A, повышает риск развития глаукомы нормального давления у пациентов Гон-Конга [7]. Возможно, в зависимости от расовой принадлежности и влияния внешних условий, один и тот же вариант гена способен участвовать в формировании разных форм ПОУГ.

Дальнейшее изучение высокочастотных полиморфизмов некодирующих частей гена и идентификация сцепленных с ними вариантов других генов являются перспективным в направлении изучения механизмов формирования фенотипа ПОУГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Allingham R.R., Liu Y., Rhee D.J. The genetics of primary open-angle glaucoma: a review // *Exp. Eye. Res.* 2009. 88. 837–844.
2. Carmel I., Tal S., Vig I., Ast G. Comparative analysis detects dependencies among the 5' splice-site positions // *RNA*. 2004. 10. (5). 828–840.
3. Colomb E., Nguyen T.D., Bechetoille A. et al. Association of a single nucleotide polymorphism in the TIGR/MYOCILIN gene promoter with the severity of primary open-angle glaucoma // *Clin Genet.* 2001. 60. 220–225.
4. Fingert J.H., Héon E., Liebmann J.M. et al. Analysis of myocilin mutation in 1703 glaucoma patient from five different populations // *Hum. Mol. Genet.* 1999. 8. (5). 899–905.
5. Fuse N. Genetic bases for glaucoma // *Tohoku J. Exp. Med.* 2010. 221. (1). 1–10.
6. <http://www.genecards.org>
7. Jia L.Y., Tam P.O., Chiang S.W. et al. Multiple gene polymorphisms analysis revealed a different profile of genetic polymorphisms of primary open-angle glaucoma in northern Chinese // *Mol. Vis.* 2009. (15). 89–98.
8. Kasahara N., Caixeta-Umbelino C., Paolera M.D. et al. Myocilin mt.1 gene promoter single nucleotide polymorphism (–1000C>G) in Brazilian patients with primary open angle glaucoma // *Ophthalmic Genet.* 2011. 32. (1). 18–23.
9. Kirstein L., Cvekl A., Chauhan B.K., Tamm E.R. Regulating of human myocilin/TIGR gene transcription in trabecular meshwork cells and astrocytes: role of upstream stimulatory factor // *Genes Cells.* 2000. 5. 661–676.
10. Knaupp C., Flügel-Koch C., Goldwisch A. et al. The expression of myocilin during murine eye development // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2004. 242. (4). 339–345.
11. Liu T., Zeng D., Zeng C., He X. Association between MYOC.mt1 promoter polymorphism and risk of primary open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis // *Med. Sci. Monit.* 2008. 14. (7). 87–93.
12. Melki R., Belmouden A., Brézin A., Garçon H.J. Myocilin analysis by DHPLC in French POAG patients: increased prevalence of Q268X mutation // *Hum. Mutat.* 2003. 22. (2). 179.
13. Messiaen L.M., Callens T., Mortier G. et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95 % of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects // *Hum. Mutat.* 2000. 15. (6). 541–555.
14. Nguyen T.D., Chen P., Huang W.D. et al. Gene structure and properties of TIGR, an olfactomedin-related glycol-protein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells // *J. Biol. Chem.* 1998. 273. (11). 6341–6350.

15. Ozgül R.K., Bozkurt B., Orcan S. et al. Myocilin mt1 promoter polymorphism in Turkish patients with primary open angle glaucoma // *Mol. Vis.* 2005. (11). 916–921.
16. Pandaranayaka P.J., Prasanthi N., Kannabiran N. et al. Polymorphisms in an intronic region of the myocilin gene associated with primary open-angle glaucoma – a possible role for alternate splicing // *Mol. Vis.* 2010. 16. 2891–2902.
17. Polansky J.R., Juster R.P., Spaeth G.L. Association of the myocilin mt.1 promoter variant with the worsening of glaucomatous disease over time // *Clin. Genet.* 2003. 64. 18–27.
18. Quigley H.A., Broman A.T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020 // *Br. J. Ophthalmol.* 2006. 90. (3). 262–267.
19. Ray K., Mookherjee S. Molecular complexity of primary open angle glaucoma: current concepts // *J. Genet.* 2009. 88. (4). 451–467.
20. Rudnicka A.R., Mt-Isa S., Owen C.G. et al. Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006. 47. (10). 4254–4261.
21. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor; NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
22. Sakai H., Shen X., Koga T. et al. Mitochondrial association of myocilin, product of a glaucoma gene, in human trabecular meshwork cells // *J. Cell. Physiol.* 2007. 213. (3). 775–784.
23. Sommer A., Katz J., Quigley H.A. et al. Clinically detectable nerve fiber atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss // *Arch. Ophthalmol.* 1991. 109. 77–83.
24. Tomarev S., Nakaya N. Olfactomedin domain-containing proteins: possible mechanisms of action and functions in normal development and pathology // *Mol. Neurobiol.* 2009. 40. (2). 122–138.
25. Wolfs R.C., Klaver C.C., Ramrattan R.S. et al. Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study // *Arch Ophthalmol.* 1998. 116. (12). 1640–1645.

POLYMORPHISM OF MYOC GENE IN WESTERN SIBERIAN PATIENTS WITH PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA

**Dinara Evgenyevna IVANOSHCHUK^{1,2}, Igor Yuryevich BYCHKOV³,
Svetlana Vladimirovna MIKHAILOVA¹, Nataliya Aleksandrovna KONOVALOVA⁴,
Alena Victorovna EREMINA³, Maria Nikolaevna PONOMAREVA⁵,
Olga Stanislavovna KONOVALOVA⁴, Mikhail Ivanovich VOEVODA^{1,2},
Aida Gerasimovna ROMASHCHENKO¹**

¹ *Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Prospekt Akademik Lavrentyev, 10*

² *Institute of Internal and Preventive Medicine of SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

³ *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630096, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

⁴ *Tyumen State Medical Academy of Minzdrav of Russia
625023, Tyumen, Odesskaya str., 54*

⁵ *The Kurgan Regional Hospital for War Veterans
640014, Kurgan, Perov str., 59*

AIM: to estimate the possible association between rs12035719 (–1000C/G), rs2075648 (–83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) and rs2032555 (IVS2(+35G/A) polymorphisms of the *MYOC* gene and primary open angle glaucoma development in Western Siberian patients of European Origin. Materials and methods: 251 unrelated patients with primary open angle glaucoma and 303 unrelated healthy people were genotyped. RESULTS. It has been shown that rs12035719 (–1000C/G), rs2075648 (–83g/a), rs2234926 (Arg76Lys) polymorphisms of the *MYOC* gene do not affect a likelihood of the primary open angle glaucoma development. Carriage of the heterozygous genotype for the rs2032555 of the *MYOC* gene correlates with an increased risk of primary open angle glaucoma. The rs2075648 and rs2234926 polymorphisms are in the complete linkage disequilibrium in the cohorts.

Key words: primary open angle glaucoma, single nucleotide polymorphism, multifactorial diseases, *MYOC* gene, genetic predisposition, myocilin.

Ivanoshchuk D.E. – junior researcher of the laboratory of the human molecular genetics, junior researcher of the laboratory of the molecular genetics therapeutic diseases, e-mail: dinara2084@mail.ru

Bychkov I.Yu. – ophthalmologist, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Mikhailova S.V. – candidate of biology sciences, researcher of the laboratory of the human molecular genetics, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru

Konovalova N.A. – doctor of medical sciences, professor, head of ophthalmologist upgrade qualifications and professional retraining chair, e-mail: doctork@bk.ru

Eremina A.V. – ophthalmologist, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Ponomareva M.N. – doctor of medical sciences, deputy director of medical services, e-mail: veteran-krgn@yandex.ru

Konovalova O.S. – candidate of medical sciences, head of the Tyumen branch, e-mail: tyumen_mntk@mail.ru

Voevoda M.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of the human molecular genetics, corresponding member of RAMS, director, e-mail: voevoda@ya.ru

Romashchenko A.G. – candidate of biology sciences, head of the interinstitute sector of molecular paleogenetics, e-mail: romasch@bionet.nsc.ru

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

Алина Евгеньевна ГРИГОРЬЕВА¹, Алена Викторовна ЕРЕМИНА²,
Светлана Николаевна ТАМКОВИЧ¹, Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ²,
Валентин Викторович ВЛАСОВ¹, Елена Ивановна РЯБЧИКОВА¹

¹ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

² Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

Цель исследования – определить ультраструктурные характеристики слезной жидкости у пациентов с диабетической ретинопатией. Материал и методы. Слезную жидкость собирали у пациентов с диабетической ретинопатией и здоровых людей, исследовали методом негативного контрастирования в электронном микроскопе Jet 1400. Выделяли фракцию экзосом и исследовали ее компоненты. Результаты и обсуждение. Показана пригодность слезной жидкости для ультраструктурного анализа ее компонентов и выделения экзосом. Выявлены рост концентрации экзосом, изменение их морфологии, а также изменение содержания других микрочастиц и макромолекулярных агрегатов в слезной жидкости больных диабетической ретинопатией.

Ключевые слова: слезная жидкость, электронная микроскопия, диабетическая ретинопатия, микрочастицы.

Диабетическая ретинопатия (ДР) является наиболее частым микрососудистым осложнением сахарного диабета и остается одной из ведущих причин слепоты во всем мире среди населения в возрасте от 20 до 74 лет. Распространенность ДР нарастает с увеличением срока заболевания диабетом; практически у всех пациентов старше 60 лет с диагнозом «диабет типа 1» и более чем у 60 % страдающих диабетом типа 2 имеются какие-либо признаки ДР [6, 20]. Основными методами диагностики ДР считаются офтальмоскопия, визуализирующая состояние сосудов, кровоизлияния и очаги поражения нервных клеток сетчатки при уже развившемся заболевании и флуоресцентная ангиография [9, 23]. Однако проведение флуоресцентной ангиографии у больных сахарным диабетом для выявления ранних стадий ДР не всегда возможно и целесообразно.

В связи с тем что эффективность лечения значительно снижается по мере прогрессирования ДР, проведение диагностических и лечеб-

но-профилактических мероприятий желательно начинать с самых ранних стадий ее развития [11]. Надежные методы ранней диагностики ДР в настоящее время не разработаны. Выполнение диагностических процедур при офтальмологических заболеваниях осложняется самой природой органа зрения, и единственным легко доступным для анализа субстратом является слезная жидкость (СЖ) – постоянная микросреда переднего отдела глаза, процесс сбора которой безопасен для глаза. У здоровых людей СЖ прозрачная или слегка опалесцирующая, имеет слабощелочную реакцию и плотность около 1,008, содержит 97,8 % воды, электролиты, низкомолекулярные метаболиты, клетки и клеточный детрит, слизь и белки, основную долю которых составляют лизоцим, лактоферрин и липокалин [8, 13, 22].

В последние десятилетия предпринимаются попытки использовать СЖ для диагностики патологических состояний органа зрения [7, 19]. Анализ научной литературы показал высокую инфор-

Григорьева А.Е. – аспирант, e-mail: feabelit@mail.ru

Еремина А.В. – врач-офтальмолог, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Тамкович С.Н. – к.б.н., e-mail: s.tamk@niboch.nsc.ru

Черных В. В. – д.м.н., проф., директор, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Власов В.В. – академик РАН, директор, e-mail: vvv@niboch.nsc.ru

Рябчикова Е.И. – д.б.н., проф., руководитель группы микроскопических исследований, e-mail: lenryab@yandex.ru

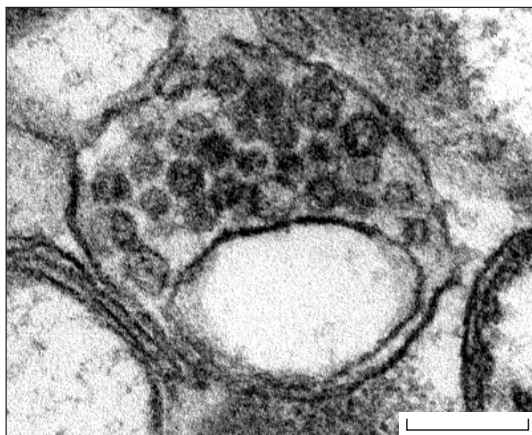


Рис. 1. Мультивезикулярное тельце в клетке осадка СЖ больного ДР. Длина масштабной линии соответствует 200 нм. Электронная микроскопия, ультратонкий срез

мативность исследований физико-химических, биохимических и иммунологических параметров СЖ для понимания патогенеза многих офтальмологических заболеваний. Установлено, что офтальмологические заболевания ведут к дисбалансу содержания в СЖ цитокинов и факторов роста, активации синтеза специфических антител и к появлению биохимических маркеров воспаления [3, 4, 17]. Активно исследуется белковый состав СЖ, в частности, показано нарастание в СЖ концентрации лизоцима [17] и фактора роста нервов [15] при развитии ДР. Таким образом, СЖ предстает как возможный универсальный индикатор нарушения обменных процессов при патологических состояниях органа зрения. Однако исследования морфологических характеристик СЖ не опубликованы.

Активно развивающимся направлением диагностических исследований в мировой науке является анализ микрочастиц, включая экзосомы, в биологических жидкостях. Экзосомы – везикулы (40–100 нм), локализованные в мультивезикулярных тельцах (рис. 1) в цитоплазме, выделяющиеся наружу и передающие сигналы между клетками. Экзосомы присутствуют во многих биологических жидкостях, и многими исследованиями было показано, что они несут на своей поверхности маркеры различных заболеваний [10, 14, 21]. В настоящее время разработаны и активно используются в исследованиях методы их выделения и концентрации из крови и мочи [12, 16]. Электронная микроскопия широко используется в исследованиях экзосом, поскольку является единственным методом, позволяющим увидеть эти структуры. Данные о присутствии экзосом в СЖ не опубликованы. Учитывая высокий диагностический потенциал данных структур, по-

казанный на экзосомах крови и мочи, изучение микрочастиц СЖ, включая экзосомы, у здоровых людей и при офтальмологических заболеваниях представляет большой интерес. Целью нашего исследования стал электронно-микроскопический анализ СЖ здоровых людей и пациентов с ДР с целью выявления и характеристики экзосом и других микрочастиц.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы СЖ были собраны у 10 пациентов с диагнозом «пролиферативная ДР». Возраст пациентов составлял 56 ± 5 лет. В качестве группы сравнения использовались образцы СЖ здоровых людей (7 проб) аналогичного возраста, без нарушения уровня глюкозы в крови. Забор СЖ (0,3–0,4 мл) проводили из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку, как описано ранее [2, 3]. Получено информированное согласие всех пациентов на использование данных исследования в научных целях, и разрешение комитета по биомедицинской этике Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» на проведение исследования (протокол № 1 от 15.01.2013).

Экзосомы выделяли из супернатанта СЖ после осаждения слизи и клеточного детрита при 20000 g в течение 20 мин при 4 °С. Замеряли объемы супернатанта и осадка, аликвоту 20 мкл использовали для электронно-микроскопического анализа. Супернатант разбавляли в 20 раз фосфатным буфером (10 mM, 0,15 M NaCl, pH 7,5) и фильтровали через фильтр с размером пор 100 нм. Затем осаждали экзосомы центрифугированием в течение 1,5 ч при 100000 g (Beckman L8-70M Ultracentrifuge, США) при 4 °С. Супернатант удаляли, осадок частиц промывали 4 мл фосфатного буфера и повторно центрифугировали в течение 1,5 ч при 100000 g при 4 °С. Супернатант удаляли, экзосомы ресуспендировали в 160 мкл фосфатного буфера. Аликвоты (80 мкл) препаратов экзосом замораживали в жидком азоте и хранили при –80 °С.

Полученные аликвоты супернатантов и выделенные экзосомы исследовали методом негативного контрастирования [5]. Образцы изучали в просвечивающем электронном микроскопе JEM 1400 (Jeol, Япония) с цифровой фотокамерой Veleta (SIS, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Структурные компоненты СЖ. Результаты настоящего исследования подтвердили полученные нами ранее данные о наличии в СЖ людей

«обязательных» структурных компонентов, визуализирующихся на ультраструктурном уровне [1]. Электронно-микроскопическое исследование показало, что во всех исследованных образцах СЖ (здоровых и пациентов с ДР) содержатся два основных структурных компонента: (1) макромолекулярные агрегаты (ММА) и (2) микрочастицы. В свою очередь ММА разделялись на три типа, содержание которых варьировало в разных образцах. Первый тип (ММА-1) представлял собой разветвленные цепочки округлых частиц размером около 10 нм с четкими границами. Наличие внутри частиц гомогенного контрастирующего вещества показывает, что они имеют структуру колец. Второй тип (ММА-2) – агрегаты, напоминающие кружево из округлых чашеобразных частиц, частично сливающихся друг с другом (размеры частиц 15 и 50 нм). Третий тип (ММА-3) – рыхлые агрегаты электронно-плотных частиц с нечеткой границей размером около 20 нм.

Основной характеристикой микрочастиц является наличие ограничивающей мембраны, частицы при этом имеют вид пузырьков (везикул). Во всех образцах СЖ наблюдались округлые везикулы размером 40–100 нм, часто – чашеобразной формы, их морфология соответствует описанной

в научной литературе морфологии экзосом [18]. Кроме того, в СЖ встречались более крупные (до 300 нм) везикулы, а также микрочастицы, не имеющие ограничивающей мембраны.

Соотношение ММА и микрочастиц варьирует в СЖ людей в зависимости от характера заболевания [1], что указывает на необходимость детального исследования структурных компонентов СЖ с целью поиска диагностических и прогностических маркеров офтальмологических заболеваний.

Ультраструктурная характеристика компонентов СЖ здоровых людей. Изучение образцов СЖ здоровых людей методом негативного контрастирования выявило невысокое содержание ММА, причем основную долю составляли ММА-1, наблюдались также редкие ММА-3, тогда как ММА-2 отсутствовали. Образцы СЖ содержали примерно в равных пропорциях везикулы (рис. 2, а) и микрочастицы, не имеющие мембраны. Часть везикул соответствовала по морфологии экзосомам (размеры 40–80 нм), другие были крупнее (150–200 нм) и соответствовали, по принятой терминологии, микровезикулам. И те, и другие имели округлую или чашеобразную форму и ровную поверхность. Не имеющие мембраны микрочастицы различались по размерам: 30–40 нм (мелкие), 90–100 нм (средние), и

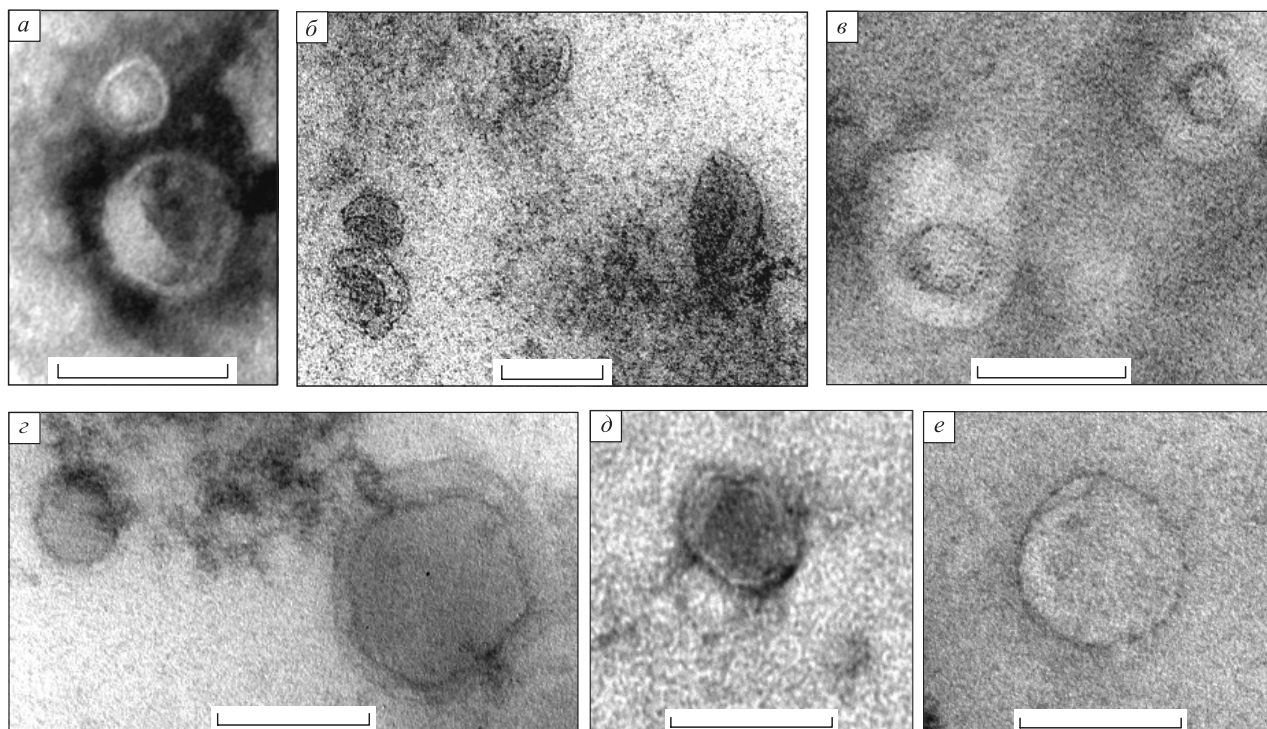


Рис. 2. Микрочастицы и экзосомы СЖ: а, б – микрочастицы и экзосомы СЖ здорового человека; в–е – микрочастицы СЖ больного ДР (в – микрочастицы, окруженные «чехлом»; г – микрочастицы с истонченной мембраной; е – экзосомы, выделенные из СЖ больного ДР). Длина масштабной линии соответствует 100 нм. Электронная микроскопия, негативное контрастирование

120–150 нм (крупные), имели ровную или с небольшими вдавлениями поверхность. Некоторые образцы СЖ здоровых людей также содержали крупные (несколько мкм) скопления вещества низкой электронной плотности, распластанного тонким слоем по поверхности подложки, с четкими изрезанными границами, возможно липидной природы. Внутри некоторых скоплений отмечались «островки» высокой электронной плотности диаметром около 80 нм различной формы и с четкими границами.

Фракция экзосом была приготовлена из тех же препаратов СЖ путем двойного ультрацентрифугирования и ультрафильтрации, и не содержала ММА и микрочастицы крупнее 100 нм. Выделенные экзосомы выглядели как округлые или чашеобразные пузырьки размером 40–100 нм (рис. 2, б), что соответствует описанию экзосом в научной литературе [21]. Фракция экзосом здоровых людей содержала также мелкие пузырьки (30–40 нм). Таким образом, использованный метод выделения экзосом из СЖ обеспечивает получение однородного препарата, пригодного для проведения молекулярно-биологических исследований, и не вызывает нарушений ультроструктуры экзосом.

Ультроструктурная характеристика СЖ больных ДР. Электронно-микроскопическое исследование СЖ пациентов с ДР выявило четкие отличия в содержании и структуре ее компонентов от СЖ здоровых людей. Так, в СЖ всех больных ДР отсутствовали ММА-2, а содержание и структура ММА-1 и ММА-3 существенно варьировали, возможно, вследствие разной тяжести и длительности заболевания.

Количество везикул в СЖ пациентов с ДР было существенно выше, чем в СЖ здоровых людей, отличалась и их морфология. Размеры везикул составляли 50–150 нм, преобладали везикулы размерами 125–150 нм и 60–80 нм (рис. 2, з), соответствующие экзосомам. Основную долю везикул во всех образцах пациентов с ДР составляли структуры, мембрана которых была либо утолщена и разрыхлена, либо истончена (рис. 2, в), наблюдалась деформация частиц. В образцах СЖ здоровых людей такие структуры не обнаружены.

Другой разновидностью везикул, присутствующих в образцах СЖ пациентов с ДР, были сферические везикулы (60–100 нм), окруженные тонким ободком электронно-плотного вещества и слоем зернистого вещества средней электронной плотности (30–40 нм) (рис. 2, д). Данные структуры выглядели как экзосомы, окруженные «капсулой», по-видимому, отражающей тесно связанные с мембраной макромолекулы. Везикулы

данного типа наблюдались в 6 образцах СЖ из 10 исследованных.

Содержание микрочастиц, не имевших мембраны, и ММА коррелировало: чем чаще встречались ММА, тем больше было микрочастиц. В 60 % образцов СЖ пациентов с ДР содержалось небольшое количество ММА и отсутствовали частицы, не имевшие мембраны.

Как и в случае СЖ здоровых людей, после ультрафильтрации и ультрацентрифугирования ММА и микрочастицы размером более 100 нм во фракции экзосом пациентов с ДР не обнаруживались. Сравнение сорбции экзосом на сеточки показало, что их содержание в СЖ пациентов с ДР существенно выше, чем в СЖ здоровых людей. Основную долю экзосом составляли везикулы размером 60–70 нм (рис. 2, е). В отличие от образцов здоровых людей, в СЖ пациентов с ДР отсутствовали мелкие пузырьки (30–40 нм). Экзосомы, окруженные «капсулой», отсутствовали, по-видимому, они были элиминированы в процессе ультрафильтрации.

Проведенное исследование установило различия в содержании и характеристиках структурных компонентов СЖ людей, не имеющих отклонений в содержании глюкозы в крови, и больных ДР. Наибольший интерес представляет выявленное повышение содержания экзосом при ДР и снижение количества частиц, не имеющих мембраны. Наряду с этими изменениями, которые могут иметь диагностическое значение, заслуживает внимания присутствие в СЖ пациентов с ДР экзосом, окруженных «капсулой», а также изменение структуры мембраны везикул и отсутствие ММА-2. Настоящее исследование определило не только отчетливые различия структурных компонентов СЖ больных ДР и здоровых людей, но и пригодность СЖ в качестве субстрата для ультроструктурного анализа и выделения экзосом. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности исследования экзосом СЖ в целях диагностики и прогноза ДР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование СЖ пациентов с ДР методом электронной микроскопии позволило установить изменения количества и структуры компонентов СЖ в сравнении с людьми, не имеющими отклонений в содержании глюкозы в крови. Обнаруженные различия свидетельствуют о высоком диагностическом потенциале СЖ и перспективности поиска диагностических маркеров офтальмологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьева А.Е., Еремина А.В., Дружинин И.Б. и др. Диагностический потенциал электронно-микроскопического анализа слезной жидкости людей // Офтальмохирургия. 2013. (4). 104–107.
2. Черных В.В., Братко В.И., Лысинов А.Г., Трунов А.Н. Влияние эфферентных и лимфотропных технологий на течение патологического процесса при диабетической ретинопатии // Офтальмохирургия. 2008. (3). 4–7.
3. Черных В.В., Шваюк А.П., Горбенко О.М. и др. Особенности патогенеза начальной и развитой стадии первичной открытоугольной глаукомы // Аллергол. иммунол. 2006. (1). 28–31.
4. Якушев Д.Ю., Бойко Э.В., Позняк А.Л. и др. Содержание провоспалительных цитокинов в слезной жидкости и сыворотке крови пациентов с глаукомой и катарактой // Актуальные проблемы офтальмологии: сб. науч. работ. М., 2011. 283–284.
5. Bello V., Mattei G., Mazzoldi P. et al. Transmission electron microscopy of lipid vesicles for drug delivery: comparison between positive and negative staining // Microsc. Microanal. 2010. 16. (4). 456–461.
6. Echouffo-Tcheugui J.B., Ali M.K., Roglic G. et al. Screening intervals for diabetic retinopathy and incidence of visual loss: a systematic review // Diabet. Med. 2013.
7. Herber S., Grus F.H., Sabuncuo P. et al. Two-dimensional analysis of tear protein patterns of diabetic patients // Electrophoresis. 2001. 22. (9). 1838–1844.
8. Holly F.J., Lemp M.A. Tear physiology and dry eyes // Surv. Ophthalmol. 1977. 22. (2). 69–87.
9. Jeganathan V.S. Evaluation of Digital Fundus images as a diagnostic method for surveillance of diabetic retinopathy // Mil. Med. 2008. 173. (12). xvi–xvii.
10. Li J., Sherman-Baust C.A., Tsai-Turton M. et al. Claudin-containing exosomes in the peripheral circulation of women with ovarian cancer // BMC Cancer. 2009. 9. 244. doi: 10.1186/1471-2407-9-244.
11. Li X., Wang Z. Prevalence and incidence of retinopathy in elderly diabetic patients receiving early diagnosis and treatment // Exp. Ther. Med. 2013. 5. (5). 1393–1396.
12. Looze C., Yui D., Leung L. et al. Proteomic profiling of human plasma exosomes identifies PPARgamma as an exosome-associated protein // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2009. 378. (3). 433–438.
13. Nichols B.A., Chiappino M.L., Dawson C.R. Demonstration of the mucous layer of the tear film by electron microscopy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1985. 26. (4). 464–473.
14. Ohshima K., Inoue K., Fujiwara A. et al. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line // PLoS One. 2010. 5. (10). e13247.
15. Park K.S., Kim S.S., Kim J.C. et al. Serum and tear levels of nerve growth factor in diabetic retinopathy patients // Am. J. Ophthalmol. 2008. 145. (3). 432–437.
16. Prunotto M., Farina A., Lane L. et al. Proteomic analysis of podocyte exosome-enriched fraction from normal human urine // J. Proteomics. 2013. 82. 193–229.
17. Stolwijk T.R., Kuizenga A., van Haeringen N.J. et al. Analysis of tear fluid proteins in insulin-dependent diabetes mellitus // Acta Ophthalmol. (Copenh). 1994. 72. (3). 357–362.
18. van der Pol E., Hoekstra A.G., Sturk A. et al. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes // J. Thromb. Haemost. 2010. 8. (12). 2596–2607.
19. van Haeringen N.J., van Agtmaal E.J. Fibrinolytic activity in human tears // Exp. Eye Res. 1989. 48. (3). 461–464.
20. Vijan S., Hofer T.P., Hayward R.A. Cost-utility analysis of screening intervals for diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus // JAMA. 2000. 283. (7). 889–896.
21. Yang C., Robbins P.D. The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis // Clin. Dev. Immunol. 2011. 2011. 842–849.
22. Zhou L., Beuerman R.W. Tear analysis in ocular surface diseases // Prog. Retin. Eye Res. 2012. 31. (6). 527–550.
23. Zhu C.H., Zhang S.S., Kong Y. et al. Effects of intensive control of blood glucose and blood pressure on microvascular complications in patients with type II diabetes mellitus // Int. J. Ophthalmol. 2013. 6. (2). 141–145.

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF TEAR FLUID IN PATIENTS SUFFERING FROM DIABETIC RETINOPATHY

**Alina Evgen'evna GRIGOR'EVA¹, Alena Viktorovna EREMINA²,
Svetlana Nikolaevna TAMKOVICH¹, Valery Vyacheslavovich CHERNYKH²,
Valentin Viktorovich VLASOV¹, Elena Ivanovna RYABCHIKOVA¹**

¹ *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS
630090 Novosibirsk, Akademik Lavrent'ev av., 8*

² *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630096, Novosibirsk, Russian Federation, Kolkhidskaya str., 10*

AIM: to determine the ultrastructural characteristics of the tear fluid of patients with diabetic retinopathy. Materials and methods: tear fluid was collected from patients and healthy individuals, and were examined by negative staining in electron microscope Jem 1400 (JEOL, Japan). Exosome fraction also was prepared and studied. Results and discussion: the suitability of tear fluid for ultrastructural analysis of its components and isolation of exosomes was shown. Increased concentration of exosomes, changes in their morphology, as well as changes in the content of other microparticles and macromolecular aggregates in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy was found.

Key words: lacrimal fluid, electron microscopy, diabetic retinopathy, microparticles.

Grigor'eva A.E. – postgraduate student, e-mail: feabelit@mail.ru

Eremina A.V. – ophthalmologist, e-mail: sci@mntk.nsk.ru

Tamkovich S.N. – candidate of biological sciences, e-mail: s.tamk@niboch.nsc.ru

Chernykh V.V. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Vlassov V.V. – academician of RAS, director, e-mail: vvv@niboch.nsc.ru

Ryabchikova E.I. – doctor of biological sciences, head of microscopy group, e-mail: lenryab@yandex.ru

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО БИОМАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОЖОГАХ РОГОВИЦЫ

Владимир Николаевич КАНЮКОВ¹, Александр Абрамович СТАДНИКОВ²,
Ольга Михайловна ТРУБИНА¹, Ольга Михайловна ЯХИНА¹

¹ Оренбургский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России

460047, г. Оренбург, ул. Салмышская, 17

² ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава России

460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6

Цель работы – изучить течение щелочного и кислотного ожогов роговицы при применении биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты. Исследование выполнено на 36 кроликах (72 глаза) в двух сериях: в 1-й серии формировали щелочной (18 кроликов), а во 2-й – кислотный ожог роговицы (18 кроликов), при этом в опытной группе проводили аппликацию «Гиаматрикса», а в контрольной применяли глазной гель Солкосерил. «Гиаматрикс» – биоматериал, полученный из исходного гидрогеля гиалуроновой кислоты путем ультрафиолетового облучения. Обнаружено, что применение биоматериала создает условия для ускорения эпителизации, а также способствует сокращению течения экссудативной фазы воспаления, более быстрому переходу в завершающую пролиферативную фазу и сокращению сроков реабилитации.

Ключевые слова: биоматериал «Гиаматрикс», ожог роговицы, гиалуроновая кислота, регенерация, асептическое воспаление.

ВВЕДЕНИЕ

Ведущее место в структуре глазного травматизма принадлежит ожогам глаз, которые характеризуются большим количеством неблагоприятных исходов [2, 3, 5–7]. Патологический механизм ожоговой болезни и ее последствий является многофакторным. Совокупность взаимодействия физиологических и биохимических изменений при ожогах глаз приводит к нарушению регенераторных процессов в роговице [1].

Целью лечения в остром периоде ожога глаз являются коррекция процесса асептического воспаления, ускорение восстановления поверхности глаза (эпителизации), профилактика вторичной инфекции, контроль гипертензии и купирование болевого синдрома [2, 5]. Однако консервативное лечение не гарантирует полного восстановления прозрачности роговой оболочки и зрительных функций из-за развития осложнений. Вследствие этого возникает необходимость применения хирургических методов лечения, таких как частич-

ное удаление участков некротизированной конъюнктивы, покрытие амниотической мембраной, трансплантация лимбальных стволовых клеток, трансплантация культивированных стволовых клеток роговичного эпителия в остром периоде ожога глаз [1–3, 7].

В отдаленном периоде ожоговой болезни глаз с целью реабилитации зрительных функций, как правило, выполняется сквозная или послойная кератопластика с одновременной реконструкцией переднего отрезка глаза в случае необходимости, кератопротезирование, успех которых зависит от структуры сформировавшегося бельма [3, 7]. Репаративные процессы роговицы изучены и описаны, однако вопрос возможности воздействия на них при той или иной патологии продолжает оставаться нерешенным [5, 8].

Цель работы – изучить течение щелочного и кислотного ожогов роговицы при применении биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты.

Канюков В.Н. – заслуженный врач РФ, проф., директор

Стадников А.А. – заслуженный деятель науки РФ, проф., зав. кафедрой

Трубина О.М. – к.м.н., доцент, заместитель директора по науке

Яхина О.М. – врач-офтальмолог

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 36 кроликах (72 глаза) в двух сериях: в 1-й серии эксперимента формировали щелочной (18 кроликов), во 2-й – кислотный ожог роговицы (18 кроликов), при этом в опытной группе оценивали влияние «Гиаматрикса» на репаративные процессы, а в контрольной – применяли глазной гель Солкосерил. Щелочной или кислотный ожог вызывали аппликацией фильтровальной бумаги (в виде круга диаметром 8 мм), смоченной 2,5 % раствором гидроксида натрия или 3 % раствором уксусной кислоты соответственно в течение 5 с на роговицу под местной анестезией 0,4 % инокаином. «Гиаматрикс» представляет собой биопластический материал, полученный из исходного гидрогеля гиалуроновой кислоты, который подвергали воздействию ультрафиолетового облучения. Он разрешен к применению в общей и пластической хирургии (регистрационное удостоверение ФСР 2011/10313 от 18.03.2011) [4].

Состояние животных оценивали клинически по признакам: характер инъекции конъюнктивы и ее выраженность, отек конъюнктивы, диаметр дефекта роговицы после окрашивания 0,1% раствором флуоресцеина натрия, интенсивность помутнения роговицы. На сроках 3, 7, 14, 30 и 90 суток животных выводили из эксперимента для проведения светооптической и электронной микроскопии, иммуноцитохимических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка стромального помутнения в опытной группе показала, что у всех экспериментальных животных оно занимало оптическую зону роговицы и сохранялось до 7 суток, а к 14 суткам уменьшалось до круга диаметром 4 мм, на месте которого формировалось стойкое помутнение, занимающее 1/3 часть роговицы, и у 4 кроликов сопровождалось неоваскуляризацией. При этом в контрольной группе помутнение роговицы сохранялось до 30 суток, на месте ожога отмечали формирование стойкого помутнения, которое занимало 2/3 роговицы и у 5 кроликов сопровождалось неоваскуляризацией.

Сразу после действия 3 % раствора уксусной кислоты в обеих группах, несмотря на отсутствие прокрашивания роговицы флуоресцеином, отмечались признаки роговичного синдрома: блефароспазм, светобоязнь, слезотечение. При биомикроскопии определяли инъекцию конъюнктивы, помутнение роговицы в области контакта с детергентом за счет отека эпителия. Отек роговицы на всех глазах опытной группы сохранялся до 7 суток, в то время как в контрольной группе – до 14

суток. Инъекция конъюнктивы в опытной группе усиливалась в первые 3 суток после аппликации, что могло быть связано с фиксацией биоматериала мягкой контактной линзой, а затем отмечалась положительная динамика и полное исчезновение инъекции к 8–9 суткам. В контрольной группе инъекция конъюнктивы уменьшалась медленнее и проходила полностью к 14 суткам.

Морфологическое исследование течения щелочного ожога свидетельствовало о том, что повреждение переднего эпителия закономерно приводило к изменению местного обмена веществ; кроме того, развивалась интоксикация продуктами распада поврежденных клеток, которая особенно была выражена ввиду анатомических особенностей строения роговицы и ее кровоснабжения. Клинически это проявлялось резким увеличением отека и инъекции конъюнктивы, отеком роговицы, блефароспазмом, светобоязнью, слезотечением, помутнением роговицы в первые 7–10 суток, что характерно для острой фазы ожога. Повреждались не только те ткани, которые были подвергнуты прямому воздействию щелочи, но и глубже лежащие структуры.

Светооптическое исследование на 3 сутки после щелочного ожога в обеих группах показало десквамацию клеток переднего эпителия, отек и дискомплексаию волокон собственного вещества роговицы (рис. 1), а применение биополимера гиалуроновой кислоты, кроме этого, сопровождалось лимитированием эпителизации раневой поверхности роговицы (рис. 2).

На сроке 7 суток на глазах кроликов опытной группы обнаруживали эпителиальные пролифераты погружного и покровного характера и отмечали наличие новообразованного эпителиального пласта в центральной зоне повреждения тканей роговицы (рис. 3), а в контрольной группе – лишь формирование малодифференцированной соединительной ткани (рис. 4).

Существенным являлось то обстоятельство, что по мере продолжения развития деструктивного процесса (сроки 7 и 14 суток) в прилежащих к некротизированным тканям участках возникало выраженное вторичное реактивное воспаление. Оно характеризовалось вазодилатацией, экстравазацией плазмы и форменных элементов крови с формированием демаркационной зоны. Демаркационная линия в исследованных участках глаза была выражена слабо, а в лимбальной зоне она отсутствовала. Это приводило к утяжелению и прогрессированию некротических процессов эпителиальных и соединительнотканых структур.

Альтерация тканей роговицы не сопровождалась адекватной экссудативной (сосудистой) и продуктивной (пролиферативной) реакциями,

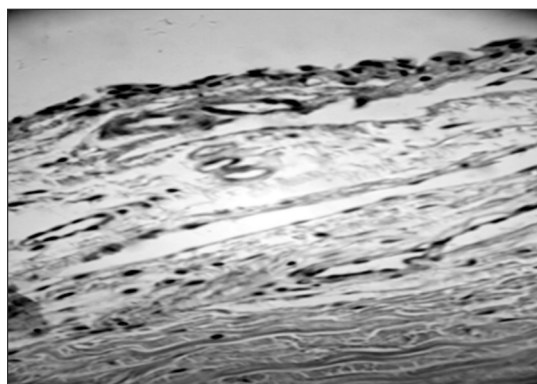


Рис. 1. Световая микроскопия. Щелочной ожог роговицы, 3 сутки, контрольная группа. Ув. 400. Окраска: гематоксилин-эозин. Отек и дисконфлексация волокон собственного вещества роговицы. Десквамация клеток переднего эпителия

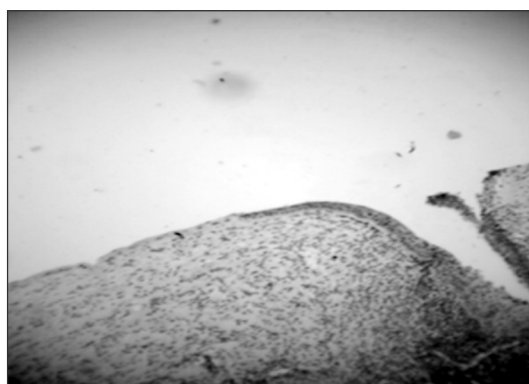


Рис. 2. Световая микроскопия. Щелочной ожог роговицы, 3 сутки, опытная группа. Ув. 80. Окраска: гематоксилин-эозин. Лимитирование эпителизации раневой поверхности роговицы

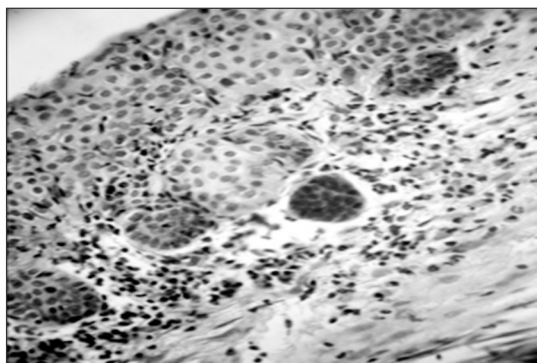


Рис. 3. Световая микроскопия. Щелочной ожог роговицы, 7 сутки, опытная группа. Ув. 400. Окраска: гематоксилин-эозин. Эпителиальные пролифераты (погруженного и покровного характера)

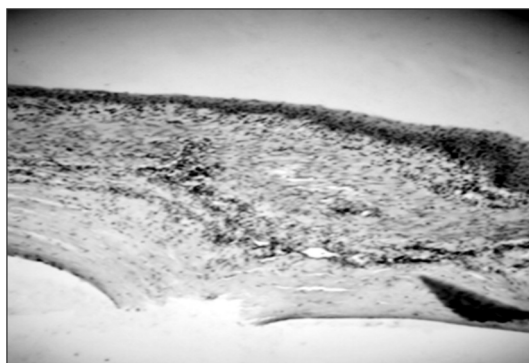


Рис. 4. Световая микроскопия. Щелочной ожог роговицы, 7 сутки, контрольная группа. Ув. 400. Окраска: гематоксилин-эозин. Формирование малодифференцированной соединительной ткани

что свидетельствовало о сохранении дистрофических процессов в моделируемых условиях. Таким образом, фокус воспаления в связи с процессами экссудации не в полной мере выполнял дренажную и элиминативную функции при ожоговой травме роговицы в контрольной группе.

Преобладающее большинство эмигрирующих лейкоцитов составили сегментоядерные нейтрофилы, значительно реже экстравазации подвергались лимфоциты, моноциты, базофильные гранулоциты и эозинофилы. Клетки продвигались в зону повреждения роговицы между волокнистыми структурами по направлению к центру воспаления, где и наблюдалось их наибольшее скопление.

В области повреждения роговицы и прилежащих участков конъюнктивы по мере угасания воспалительного процесса происходила активизи-

зация камбиальных клеток и клеток фибробластического дифферона, что было более выражено в опытной группе, чем в контрольной. При этом образовывались волокнистые структуры без разрастаний эпителиальной ткани. Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод о том, что щелочное повреждение роговицы экспериментальных животных (кроликов) приводило к развитию некротического воспаления.

На фоне восстановления гемомикроциркуляции (до трех месяцев с момента ожога) развивались пролиферативные и регенераторные процессы, которые обеспечивали впоследствии образование коллагеновых волокон и межучасточного вещества стромы поверхностных тканей глаза. В процессе регенерации участки некроза ткани заполнялись не специфической стромальной тканью, а соединительной с формированием рубца.

На протяжении стадии ранних исходов ожогового процесса, до 90 суток с момента ожога, субэпителиально осуществлялись фибропластические процессы, формировалась грануляционная ткань.

В сроки свыше 2 недель процессы в обеих группах были сходными, ведущими к стабилизации раневого процесса. Однако их завершение в опытной группе протекало быстрее. Для подтверждения этого было проведено иммуноцитохимическое исследование, которое показало, что при применении биополимера гиалуроновой кислоты снижалась апоптотическая доминанта эпителиоцитов и фибробластов роговицы, взятой для исследования на 3 и 15 сутки эксперимента. С другой стороны, возрастала экспрессия протеина bcl2, что свидетельствовало о выраженности пролиферативной фазы воспаления. В целом результаты иммуноцитохимического исследования подтверждали тот факт, что аппликация биополимера гиалуроновой кислоты оптимизирует репаративные гистогенезы с включением механизмов лимитирования экспрессии проапоптотического гена *p53*, снижая число иммунопозитивных эпителиоцитов в 2,5–3 раза по сравнению с контрольной группой.

Морфологические изменения роговицы при кислотном ожоге имели особенности и соответствующую клиническую картину. Они представляли собой коагуляционный некроз поверхностных слоев с формированием плотного струпа на роговице, что обусловило роговичный синдром, но не дало возможности прокрашивания стромы флуоресцеином. На сроке наблюдения 3 суток светооптическое исследование показало, что клетки переднего эпителия роговицы животных обеих групп были повреждены, в мелких сосудах формировались тромбы, при этом плазма выходила в окружающие ткани, что клинически проявлялось отеком конъюнктивы. Кроме деструктивных изменений эпителиоцитов, отмечались нарушения в строме, которые строго соответствовали участку ожога и захватывали не менее 1/3 толщины стромы. Морфологически определяли признаки токсического действия продуктов распада поврежденных клеток. Таким образом, при кислотном ожоге, в отличие от щелочного, возникал коагуляционный (сухой) некроз – кислотная денатурация белков, благодаря которой кислота не проникала в подлежащие слои ткани. При проведении световой и электронной микроскопии выявлено, что процессы регенерации в опытной группе протекали активнее, чем в контрольной. Это выражалось в более быстрой эпителизации поврежденного участка роговицы, митотической активности клеток переднего эпителия.

При иммуноцитохимическом исследовании установлено, что, также как и при щелочном ожоге, при кислотном ожоге в роговице снижалась апоптотическая доминанта эпителиоцитов и фибробластов, но возрастала экспрессия белка bcl2, свидетельствующая о выраженности пролиферативной фазы воспаления.

На сроке от 30 суток и выше наблюдали завершение фибробластических процессов как в опытной, так и в контрольной группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе проведенного экспериментального исследования данные свидетельствуют об оптимизации процессов эпителизации раневой зоны, стимуляции митотической активности базальных и шиповатых клеток переднего эпителия, лимитировании апоптотической доминанты эпителиоцитов и фибробластов собственного вещества роговицы в условиях применения биоматериала, что также было подтверждено иммуноцитохимическим исследованием.

Применение аппликации биопластического материала на начальном этапе лечения химического ожога роговицы способствовало стабилизации эпителио-соединительнотканых взаимоотношений в более ранние сроки эксперимента, создавало условия для ускорения эпителизации, а также способствовало сокращению течения экссудативной фазы воспаления, более быстрому переходу в завершающую пролиферативную фазу и сокращению сроков реабилитации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Дадашева З.Р.* Хирургическая тактика при лечении тяжелой и особо тяжелой ожоговой травмы глаз: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2004.
2. *Макаров П.В., Гундорова Р.А., Чернетский И.С., Оганесян О.Г.* Лимбальная трансплантация в хирургической реабилитации пациентов, перенесших тяжелые ожоги глаз // Вестник офтальмологии. 2007. 123. 3. 9–12.
3. *Мороз З.И.* Современные направления хирургического лечения патологии роговицы // Съезд офтальмологов России, 9-й: тез. докл. М.: 2010. 298–299.
4. *Рахматуллин Р.Р.* Биопластический материал на основе гиалуроновой кислоты: биофизические аспекты фармакологических свойств // Фармация. 2011. 4. 36–39.
5. *Севостьянов А.Е.* Использование фитостероида (экдистен) при заболеваниях роговицы с повреждением переднего эпителия (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Самара, 2010.

6. Ульянов А.Н., Шиловских О.В., Фечин О.Б. Первый опыт реконструкции поверхности роговицы методом конъюнктивально-лимбальной трансплантации в реабилитации пациентов с ожоговыми бельмами // Офтальмохирургия. 2008. 1. 9–12.

7. Per Fagerholm, Neil S. Lagali, David J. Carlsson, Kimberley Merrett, May Griffith. Corneal

regeneration following implantation of a biomimetic tissue-engineered substitute // Clin. Trans. Sci. 2009. 2. 162–164.

8. Schwab I., Reyes M., Isseroff R.R. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements inpatient with ocular surface disease// Cornea. 2000. 343. 421–426.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS OF APPLICATION OF HYALURONIC ACID NANOSTRUCTURED BIOMATERIAL AT CORNEAL BURNS

Vladimir Nikolaevich KANYUKOV¹, Aleksandr Abramovich STADNIKOV², Olga Mikhailovna TRUBINA¹, Olga Mikhailovna YAKHINA¹

¹ *The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution Orenburg Branch 460047, Orenburg, Salmishskaya str., 17*

² *Orenburg State Medical Academy 460000, Orenburg, Sovetskaya str., 6*

The aim of the study was to investigate the course of alkaline and acid corneal burns at bioplastic material based on hyaluronic acid usage. The study was performed on 36 rabbits (72 eyes) in 2 series: in the first series alkaline burn was formed (18 rabbits), and in the second one – the acid burn of the cornea (18 rabbits). At that the application of «Hyamatrix» was conducted in the experimental group and the eye gel «Solkoseryl» – in the control group. «Hyamatrix» is a biomaterial derived from a starting hyaluronic acid hydrogel exposed to ultraviolet irradiation. The application of biomaterial has created the conditions for the epithelialization acceleration and also helped to reduce the course of exudative phase of inflammation, a more rapid transition to the final proliferative phase and reduction of the rehabilitation terms.

Key words: biomaterial «Hyamatrix», corneal burn, experiment, hyaluronic acid, regeneration, aseptic inflammation.

Kanyukov V.N. – honored doctor of the RF, professor, director

Stadnikov A.A. – honored worker of science of the RF, professor, head of department

Trubina O.M. – candidate of medical sciences, associate professor, deputy director for scientific work

Yakhina O.M. – ophthalmologist

КОНСТРУИРОВАНИЕ ТРАНСПЛАНТАТОВ ДОНОРСКОГО РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ МЕТОДОМ ТРЕХМЕРНОГО КЛЕТОЧНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Сергей Анатольевич БОРЗЕНОК¹, Илья Андреевич ПОПОВ¹,
Дмитрий Сергеевич ОСТРОВСКИЙ¹, Ирина Николаевна САБУРИНА²,
Анастасия Владимировна КОШЕЛЕВА², Ирина Михайловна ЗУРИНА²

¹ ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, 59а

² ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН
125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8

Цель исследования – изучить процесс формирования трансплантатов донорского ретинального пигментного эпителия в форме сфероидов (округлых клеточных масс). Материал и методы. Клетки донорского ретинального пигментного эпителия последовательно культивировали в двухмерных, а затем в трехмерных условиях. Использовали методы световой микроскопии, цифровой фотографии и обработки изображений. Результаты и обсуждение. В течение первых 48 часов трехмерного культивирования происходило формирование сфероидов различной морфологии. Сферойды с «гладкой» поверхностью проявили большую динамичность поведения по сравнению со сфероидами с «бахромчатой» поверхностью.

Ключевые слова: ретинальный пигментный эпителий, двухмерная культура, трехмерная культура, височная капля, сфероид, трансплантат.

Ретинальный пигментный эпителий играет центральную роль в поддержании метаболизма зрительного цикла, а его дисфункция является не-пременным патогенетическим звеном в развитии дистрофических заболеваний сетчатки. Способы лечения таких состояний, используемые сегодня в клинической практике, обладают ограниченной эффективностью, в связи с чем в последние годы обширно ведутся экспериментальные разработки в области хирургической реконструкции слоя ретинального пигментного эпителия на базе современных достижений клеточной биологии и регенеративной медицины. Первым этапом в процессе реконструкции слоя пигментного эпителия является получение клеточного трансплантата.

Из литературы известно несколько форм использования пигментного эпителия в целях трансплантации. Известны работы по трансплантации клеток ретинального пигментного эпителия в форме суспензии клеток [2, 4, 5], в составе тканевых эксплантов заднего отрезка глаза [2, 5], в виде двумерной (2D) культуры клеток на плоских субстратах [4, 11], а также в виде трехмерной (3D) культуры клеток на трехмерных субстратах (микроносителях) [9]. На суспензионных культурах показано, что клетки ретинального пигментного эпителия, экстрагированные из естественного тканевого ложа, гибнут путем апоптоза, если не находят механической опоры в течение нескольких часов [8, 10]. Такой опорой может служить

Борзенко С.А. – д.м.н., зав. Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем, проф. кафедры глазных болезней, e-mail: mdborzenok@narod.ru

Попов И.А. – аспирант Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем, e-mail: ilya_doctor_porov@mail.ru

Островский Д.С. – младший научный сотрудник Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем

Сабурин И.Н. – д.б.н., зав. лабораторией клеточной биологии и патологии развития, проф. кафедры патофизиологии

Кошелева А.В. – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и патологии развития

Зурина И.М. – младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и патологии развития

плоская поверхность лабораторной посуды или пленочного субстрата (матрикса), трехмерный субстрат искусственного внеклеточного матрикса либо поверхности соседних клеток пигментного эпителия в бессубстратных 3D-культурах, принимающих форму сфероидов – клеточных агрегатов округлой формы.

Техника сфероидных 3D-культур позволяет сохранять жизнеспособность трансплантируемых клеток, контролировать процесс эпителиально-мезенхимальной трансформации, ограничивать посттрансплантационную миграцию клеток из сфероида в трансплантационное ложе реципиента, а также является более простой и воспроизводимой по сравнению с техникой матричных культур [1, 7]. Известны способы получения трехмерных клеточных культур методом «висячей капли» [6], а также примеры использования клеточных сфероидов в регенеративной медицине [3]. На момент настоящей публикации в литературе не обнаружено данных о конструировании трансплантатов ретинального пигментного эпителия в форме клеточных сфероидов для лечения дегенеративных заболеваний сетчатки, что и обусловило цель нашего исследования – разработать протокол конструирования алловетеральных сфероидных трансплантатов ретинального пигментного эпителия методом клеточного 3D-культивирования и изучить микроскопически динамику изменения его морфологии *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Справка. Экспериментальные исследования на тканях, выделенных из трупных человеческих глаз, проводились в соответствии с официально принятыми процедурами и специальным разрешением в рамках законодательства РФ. На основании лицензии Федеральной государственной службы по надзору за здравоохранением № 99-01-005317 от 30.04.2008 и № ФС-99-01-008251 от 18.02.2013 Глазной тканевой банк Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова (г. Москва) получает трупные человеческие глаза из танатологических отделений Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы. Лицензия позволяет использовать ткани, выделенные из трупных человеческих глаз, для целей трансплантации и научных исследований.

Выделение клеточного материала. В качестве источника клеток донорского ретинального пигментного эпителия использовали глазные яблоки доноров-трупов без корнеолиम्бальных дисков, удаленных для целей трансплантации

роговицы (всего 2 глаза от одного донора-трупа, мужчина 56 лет). Радужная оболочка, цилиарное тело, хрусталик, стекловидное тело и нейральная часть сетчатки удалялись. Оставшийся глазной бокал включал в себя склеру, собственную сосудистую оболочку, ретинальный пигментный эпителий, диск зрительного нерва, а также культы экстраокулярных мышц и экстраокулярной части зрительного нерва. Глазной бокал заполняли раствором Хэнкса с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} (ПанЭко, Россия) в объеме, достаточном для заполнения всего бокала, и инкубировали при стандартных условиях ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 ; инкубатор NU-5510, NuAire, США) в течение 20 мин. После инкубации раствор из глазного бокала переносили в центрифужную пробирку 15 мл (Corning Lifesciences, США) и центрифугировали (центрифуга SL-40 R, Thermo Scientific, Германия) в режиме 1800 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость удаляли.

Получение 2D клеточных культур ретинального пигментного эпителия. Осадок, полученный на предыдущем этапе, разбавляли 2 мл питательной среды на основе полной ростовой среды DMEM/F12 (1:1, БиолоТ, Россия; 91,3 об.%) с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крови коров (HyClone, США; 6,9 об.%), смеси антибиотиков (пенициллин 10000 МЕ/мл, стрептомицин 10 000 мкг/мл, амфотерицин 25 мкг/мл; MP Biomedicals, LLC, США; 1,0 об.%), раствора гепарина (5000МЕ/мл, ФГУП «Московский эндокринный завод», 0,7 об.%), L-глутамина (4 мм сухого вещества на 1 л питательной среды; ПанЭко, Россия). Смесь питательной среды и клеток в объеме 2 мл пипетировали и помещали на дно чашки Петри (60×15 мм, SPL Life Sciences, Co., Ltd, Корея), поверхность которой была предварительно смочена 10 % эмбриональной сывороткой крови крупного рогатого скота (HyClone, США). Чашку Петри накрывали крышкой и инкубировали при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 (инкубатор NU-5510, NuAire, США). Смену питательной среды проводили каждые 2–3 дня до получения монослоя ретинального пигментного эпителия на дне чашки Петри.

Получение 3D сфероидных культур клеток донорского пигментного эпителия. В чашке Петри с 2D культурой клеток, полученной на предыдущем этапе, питательную среду заменяли раствором 0,25 % трипсина (ПанЭко, Россия) в объеме 2 мл, и инкубировали в стандартных условиях. Спустя 5 мин инкубации жидкость из чашки Петри переносили в центрифужную пробирку с добавлением 1 мл 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота (с целью нейтрализации остатков трипсина) и центрифугировали в режиме 1800

об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость удаляли. К образовавшемуся осадку добавляли $V + 5$ мкл питательной среды, пипетировали и переносили в отдельную пробирку $V + 5$ мкл концентрированной суспензии, 5 мкл которой использовали для подсчета количества клеток при помощи камеры Горяева. Оставшиеся V мкл концентрированной суспензии разбавляли x мкл питательной среды исходя из расчета $x = (v \cdot N/n) - V$, где x – объем добавляемой питательной среды (мкл), v – объем одной висячей капли (мкл), N – количество клеток в V мкл концентрированной суспензии, n – требуемое количество клеток в одной висячей капле объемом v мкл, V – объем разбавляемой концентрированной суспензии. При $x < 0$ суспензия исключалась из эксперимента. В данной работе использовались следующие параметры: $v = 20$ мкл, $N = 100$ тыс. клеток, $n = 500$ клеток, $V = 50$ мкл.

Образцы полученной разбавленной суспензии объемом 20 мкл в форме капли переносили на внутреннюю поверхность сухой крышки чашки Петри (диаметр чашки 65 мм, крышка с сетчатой разметкой; HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия). Далее, крышку с нанесенными на нее образцами суспензии (до 16 образцов на одной крышке) помещали каплями вниз (техника «висячей капли») на соответствующую чашку Петри, на дно которой предварительно наливали 2 мл дистиллированной воды для поддержания уровня влажности. Полученные культуры клеток инкубировали в стандартных условиях (37 °С, 5 % CO₂). Замену среды проводили каждые 2–3 дня.

Наблюдение. Микроскопическое наблюдение за поведением клеток в культурах осуществляли с помощью инвертированного микроскопа IX-81 (Olympus, Япония) через каждые 6 ч в первые сутки наблюдения, через каждые 12 ч в следующие сутки и через каждые 24 ч в последующие дни. Фотографирование проводили через каждые 12 ч с помощью цифровой фотокамеры XC-10 (Olympus, Япония) в те же сроки. Цифровую обработку получаемых изображений проводили с помощью программного обеспечения cellSens Dimension (Olympus, Япония). Проводили качественную оценку динамики формы и количественную оценку размера образующихся сфероидов в течение 7 суток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изначально было получено 70 висячих капель, содержащих взвесь клеток ретинального пигментного эпителия, неравномерно распределенных по пространству капли с преимущественным их скоплением возле вершины. В первые 24 ч на-

блюдения происходило постепенное уменьшение видимой площади клеточной массы. Через 12 ч в каждой капле отмечалось формирование сфероидов, морфологически отличающихся по двум признакам – по четкости контура и по размеру сформировавшихся агрегатов. Одна часть сфероидов имела гладкие контуры, другая – «бахромчатые». В одних висячих каплях сформировался один большой сфероид (>150 мкм) в сопровождении нескольких сфероидов малой величины (<50 мкм), а в других – группа из нескольких сфероидов среднего размера (50–150 мкм). Все сфероиды обладали выраженной пигментацией, а составляющие их клетки имели преимущественно мезенхимальный фенотип. К концу первых суток количество висячих капель со сфероидами среднего размера и гладкой морфологии уменьшилось – некоторые из них слились в крупные агрегаты с гладкой поверхностью. К концу вторых суток культивирования часть крупных «гладких» сфероидов приобрела «бахромчатость». Рисунок иллюстрирует 4 полученных морфологических типа клеточных агрегатов. В одном случае на 4 сутки «бахромчатые» сфероиды среднего размера подверглись полному распаду с формированием взвеси клеток и дебриса. При дальнейшем наблюдении морфология сфероидов не менялась. Случаев перехода «бахромчатых» сфероидов в «гладкие» отмечено не было. Средний размер крупных сфероидов с «гладкой» морфологией на 5 день составил $217 \pm 5,5$ мкм. В таблице отражена динамика формирования клеточных структур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный протокол позволяет успешно эксплантировать клетки ретинального пигментного эпителия из трупных донорских глаз, и формировать из них потенциально трансплантаты – клеточные сфероиды, обладающие заданными параметрами. Мы считаем, что сроки 3D культивирования 24–48 ч являются оптимальными для формирования клеточных агрегатов, подходящих для трансплантации. Выделены морфологические варианты сфероидов, которые при дальнейшем исследовании могут служить косвенными ориентирующими признаками при их отборе для трансплантации. Мы предполагаем, что наибольшим регенеративным потенциалом должны обладать сфероиды с гладкой поверхностью, что подтверждается их пластичностью и способностью сливаться друг с другом. Однако в дальнейшем потребуется показать прямую зависимость между морфологическими признаками сфероидных трансплантатов и их свойствами.

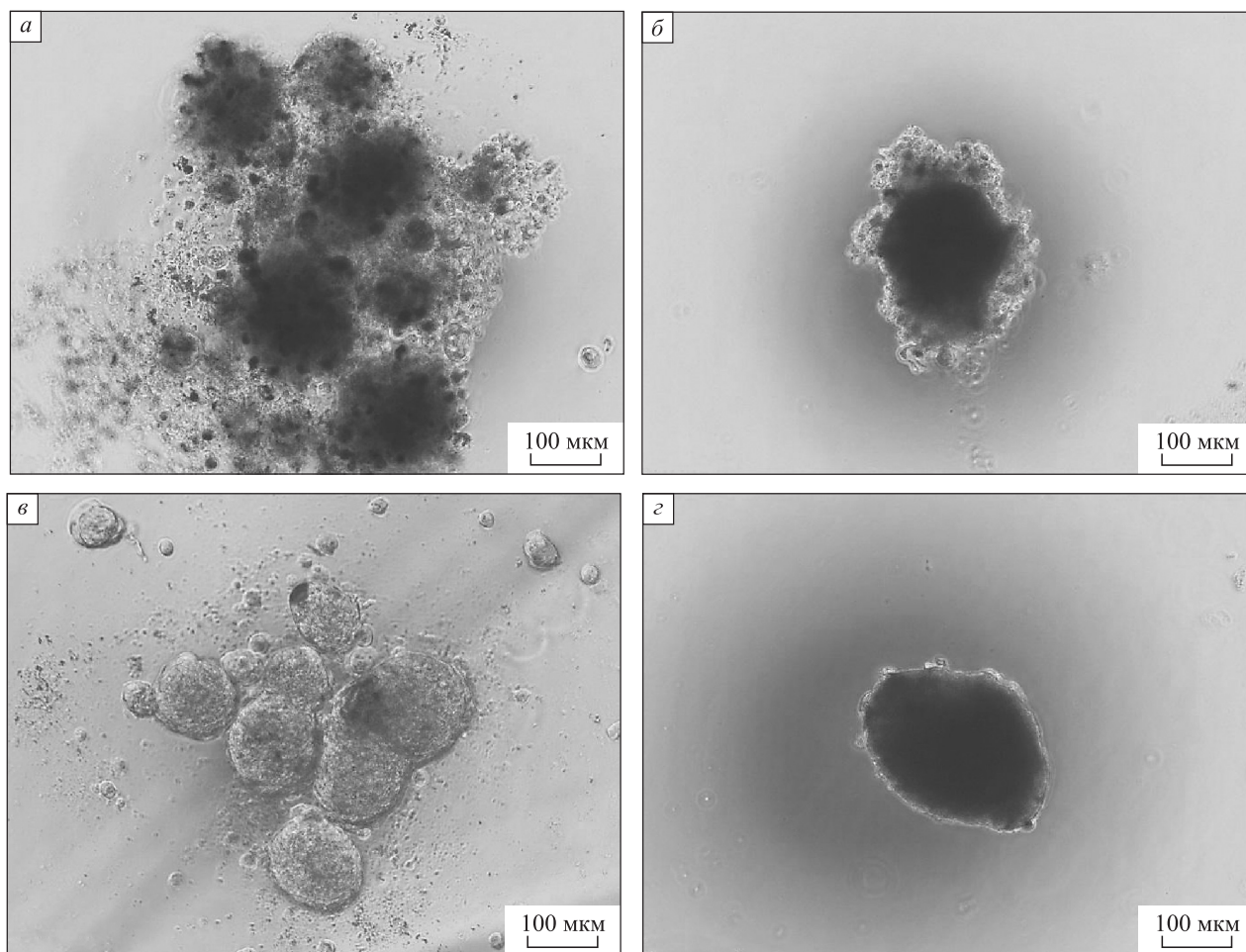


Рис. Морфологические типы клеточных агрегатов, образующихся в висячих каплях к концу вторых суток культивирования. Ув. 100х. а – группа «бахромчатых» сфероидов среднего размера; б – один крупный «бахромчатый» сфероид; в – группа «гладких» сфероидов среднего размера; г – один крупный «гладкий» сфероид

Таблица

Динамика изменения количества висячих капель, несущих сфероиды различной морфологии

Срок наблюдения	0 ч	6 ч	12 ч	18 ч	24 ч	36 ч	48 ч	3 дня	4 дня	5 дней	6 дней	7 дней
Неопределенная клеточная масса	70	70	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Группа «бахромчатых» сфероидов среднего размера	0	0	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11
Один крупный «бахромчатый» сфероид	0	0	9	9	9	9	12	12	12	12	12	12
Группа «гладких» сфероидов среднего размера	0	0	24	19	11	10	10	10	10	10	10	10
Один крупный «гладкий» сфероид	0	0	25	30	38	39	36	36	36	36	36	36

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Achilli T.M., Meyer J., Morgan J.R. Advances in the formation, use and understanding of multi-cellular spheroids // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2012. (10). 1347–1360.
2. Caramoy A. A reply to human retinal pigment epithelium (RPE) transplantation: outcome after autologous RPE-choroid sheet and RPE cell-suspension in a randomised clinical study // *Br. J. Ophthalmol.* 2011. 95. (3). 431.
3. Cheng N.C., Chen S.Y., Li J.R., Young T.H. Short-term spheroid formation enhances the regenerative capacity of adipose-derived stem cells by promoting stemness, angiogenesis, and chemotaxis // *Stem Cells Transl. Med.* 2013. 2. (8). 584–594.
4. Diniz B., Thomas P., Thomas B. et al. Subretinal implantation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells: improved survival when implanted as a monolayer // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013. 54. (7). 5087–5096.
5. Falkner-Radler C.I., Krebs I., Glittenberg C. et al. Human retinal pigment epithelium (RPE) transplantation: outcome after autologous RPE-choroid sheet and RPE cell-suspension in a randomised clinical study // *Br. J. Ophthalmol.* 2011. 95. (3). 370–375.
6. Foty R. A simple hanging drop cell culture protocol for generation of 3D spheroids // *J. Vis. Exp.* 2011. 6. (51). pii. 2720.
7. Lin R.Z., Chang H.Y. Recent advances in three-dimensional multicellular spheroid culture for biomedical research // *Biotechnol. J.* 2008. (9–10). 1172–1184.
8. Tezel T.H., Del Priore L.V. Reattachment to a substrate prevents apoptosis of human retinal pigment epithelium // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1997. 235. (1). 41–47.
9. Thomson H.A., Treharne A.J., Backholer L.S. et al. Biodegradable poly(α -hydroxy ester) blended microspheres as suitable carriers for retinal pigment epithelium cell transplantation // *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2010. 15. 95. (4). 1233–1243.
10. Uebersax E.D., Grindstaff R.D., Defoe D.M. Survival of the retinal pigment epithelium in vitro: comparison of freshly isolated and subcultured cells // *Exp. Eye Res.* 2000. 70. (3). 381–390.
11. Yaji N., Yamato M., Yang J. et al. Transplantation of tissue-engineered retinal pigment epithelial cell sheets in a rabbit model // *Biomaterials.* 2009. 30. (5). 797–803.

THE CONSTRUCTION OF TRANSPLANTS OF HUMAN CADAVERIC DONOR RETINAL PIGMENT EPITHELIUM BY THE METHOD OF 3D CELLULAR CULTURE

**Sergey Anatol'evich BORZENOK¹, Il'ya Andreevich POPOV¹,
Dmitriy Sergeevich OSTROVSKIY¹, Irina Nikolaevna SABURINA²,
Anastasiya Vladimirovna KOSHELEVA², Irina Mikhaylovna ZURINA²**

¹ *The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow
127486, Moscow, Beskudnikovsky Blvd, 59a*

² *The Research Institute of General Pathology and Pathophysiology of RAMS
125315, Moscow, Baltiyskaya str., 8*

AIM. To investigate the process of donor retinal pigment epithelium transplants as the spheroids (round cell masses). MATERIALS AND METHODS. The cells of donor retinal pigment epithelium were successively cultivated in two-dimensional and then in three-dimensional conditions. Methods of light microscopy, digital photography and image processing were used. RESULTS AND DISCUSSION. During the first 48 hours of three-dimensional cultivation spheroids of different morphology were forming. Spheroids with «smooth» surface showed greater fluidity in comparison to the spheroids with «rough» surface.

Key words: retinal pigment epithelium, two-dimensional culture, three-dimensional culture, hanging drop, spheroid, transplant.

***Borzenok S.A.** – doctor of medical sciences, head of the center of fundamental and applicative medical biological problems, professor of the chair of eye diseases, e-mail: mdborzenok@narod.ru.*

***Popov I.A.** – postgraduate student of the center of fundamental and applicative medical biological problems, e-mail: ilya_doctor_popov@mail.ru.*

***Ostrovskiy D.S.** – junior researcher of the center of fundamental and applicative medical biological problems*

***Saburina I.N.** – doctor of biological sciences, head of the laboratory of cell biology and developmental pathology, professor of the chair of pathophysiology*

***Kosheleva A.V.** – candidate of biological sciences, leading researcher of the laboratory of cell biology and developmental pathology*

***Zurina I.M.** – junior researcher of the laboratory of cell biology and developmental pathology*

МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ ТЕРАПИИ ДИСФУНКЦИИ ЛИМБАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ

**Ольга Владимировна ПОВЕЩЕНКО¹, Александр Федорович ПОВЕЩЕНКО¹,
Александр Петрович ЛЫКОВ¹, Наталья Анатольевна БОНДАРЕНКО¹,
Юлия Владимировна НИКОНОРОВА¹, Игорь Борисович ДРУЖИНИН²,
Владимир Иосифович КОНЕНКОВ¹**

¹ *ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

² *Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10*

Одним из способов терапии дисфункции лимбального эпителия является терапия стволовыми клетками. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки представляют собой класс стволовых клеток, которые распределены в различных тканях и органах, они имеют потенциал к самоподдержанию, способны дифференцироваться при определенных условиях в другие типы клеток, помимо репаративного потенциала, оказывают иммуномодулирующее, противовоспалительное и модулирующее ангиогенез действие. Эти потенциальные свойства мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток являются ценными для реконструкции роговицы. В настоящем обзоре обобщена информация о применении мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для терапии заболеваний роговицы.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, роговица, клеточная терапия, регенерация, цитодифференцировка, лимбальные стромальные клетки.

Развитие нового научного направления – регенеративной медицины – напрямую связано с широким внедрением в клиническую практику методов клеточной терапии для лечения ряда воспалительно-дегенеративных заболеваний, в том числе и патологии глаза. Достижения в области регенеративной медицины и клеточной терапии основываются на уникальных свойствах стволовых клеток, включая способность к самообновлению и возможность дифференцировки в тканеспецифические виды клеток, что служит основанием их применения для регенерации поврежденных тканей и органов [3, 4, 10, 20–23, 37]. Во взрослом организме внешний эпителий роговицы наиболее подвержен внешним влияни-

ям, а заболевания роговицы вследствие воспаления, травмы, системных заболеваний в конечном счете могут привести к ослаблению зрения и слепоте [23, 26, 48–50, 54–55]. Кератопластика является одним из наиболее эффективных методов лечения повреждений роговицы вследствие различных врожденных и приобретенных дефектов и деформаций, после травм и направлена на восстановление или улучшение прозрачности роговицы и повышение остроты зрения. Однако получение качественного донорского материала было и остается одной из кардинальных проблем в пересадке роговицы [23, 47, 48, 49]. В последние годы интенсивные исследования сосредоточены на изучении лимбальных стволовых клеток [15–

Повещенко О.В. – к.м.н., зав. лабораторией клеточных технологий, e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

Повещенко А.Ф. – д.м.н., зав. лабораторией физиологии протективной системы, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Лыков А.П. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, e-mail: lykovalex@freemail.ru

Бондаренко Н.А. – к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, e-mail: bond802888@yandex.ru

Никонорова Ю.В. – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, e-mail: jvnik@mail.ru

Дружинин И.Б. – к.м.н., врач-офтальмолог

Коненков В.И. – д.м.н., академик РАН, директор института, e-mail: lymphology@soramn.ru

19, 24–26, 36, 39, 54, 53]. В качестве клеток-кандидатов для клеточной терапии рассматриваются и изучаются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) в связи с их способностью к цитодифференцировке в различные тканеспецифические типы клеток, продукции цитокинов и факторов роста, наличием иммуносупрессивных свойств [1, 13, 18, 20, 21, 24, 28, 29–31, 33, 38, 41, 44–46]. Экспериментальные и пилотные клинические исследования применения ММСК для терапии повреждений роговицы выявили их эффективность в реконструкции повреждений роговицы, однако механизмы, лежащие в основе такого действия, изучены недостаточно. Данный обзор посвящен выяснению биологических особенностей, свойств и возможных механизмов действия ММСК при повреждении роговицы глаза.

ММСК изначально идентифицированы в костном мозге, а впоследствии обнаружены во многих органах и тканях, таких как жировая ткань, сердце, пульпа зуба, периферическая кровь, пуповинная кровь, лимб глаза [2, 4–14, 16, 17, 20–22, 25, 28, 30–33, 37, 38, 45]. Основными источниками получения ММСК являются костный мозг и жировая ткань, но интенсивно исследуются и альтернативные источники ММСК, в частности фетальные и неонатальные ткани, включая плаценту, пуповинную кровь.

Морфологически ММСК напоминают фибробласты, а при стимуляции химическими агентами или же при изменении физиологических условий (гипоксия, изменение pH среды) способны дифференцироваться в различные типы тканей, в том числе в костную, хрящевую и жировую ткань [4, 20–22, 30, 33, 44, 45]. При определенных условиях эти клетки могут дифференцироваться в нейроны, миоциты, кардиомиоциты, гепатоциты, а также в эпителиальные клетки через мезенхимально-эпителиальный переход [4, 20–22, 28, 33, 44, 45].

ММСК обладают противовоспалительным и нейротрофическим действием, способны инициировать васкуляризацию поврежденных тканей, активировать резидентные стволовые клетки к пролиферации и миграции в зону повреждения, что делает их применение при клеточной терапии дегенеративных процессов в организме человека перспективным [2, 4–6, 10, 28, 33]. Низкая экспрессия молекул гистосовместимости класса II и отсутствие костимуляторных молекул, таких как CD40, CD40L, B71, B72, на клеточной поверхности ММСК позволяет им преодолевать иммунный надзор и не отторгаться при аллогенном применении [2, 4–6, 10, 28, 33]. С другой стороны, появляются сообщения о наличии у ММСК

в редких случаях антигенов гистосовместимости, что приводит к развитию на них иммунного ответа – появлению аутоантител [12].

Высокая пролиферативная активность ММСК позволяет *in vitro* нарастить их в достаточном количестве для клинического использования [7]. Общепринятым способом введения ММСК в организм является внутривенное и/или местное введение. Последнее чаще всего используется для заболеваний роговицы. ММСК можно вводить в роговицу непосредственно [39, 50, 51] или на носителях, таких как амниотическая мембрана или гель из фибрина [39].

ММСК широко используются в регенеративной медицине, в том числе для остеогенеза, при печеночной недостаточности, трофических язвах, при хронической сердечной недостаточности [20, 28, 30, 32]. Кроме этого ММСК используют для предотвращения или же терапии реакции «трансплантат против хозяина», в частности при аллогенной пересадке костного мозга [2, 9, 12, 30]. Эффект совместной трансплантации ММСК с гемопоэтическими стволовыми/прогениторными клетками или трансплантируемыми органами связан со способностью ММСК продуцировать широкий спектр биологически активных веществ с иммуносупрессорной активностью [2, 9]. Также отмечено, что трансплантация ММСК регулирует процесс неоангиогенеза и активирует резидентные стволовые клетки [8].

Наличие у ММСК противовоспалительной, иммуномодулирующей активности, вовлеченность их в процесс ангиогенеза делает данные клетки привлекательными в плане клеточной терапии заболеваний глаза, в том числе и патологии роговицы.

Базисом для проведения клеточной терапии является факт способности ММСК к цитодифференцировке в различные типы тканей [1, 13, 18, 20, 21, 24, 27, 29–31, 33, 38, 41, 44–46]. Полагают, что введенные в область роговицы ММСК способны к дифференцировке в эпителиальные ткани роговицы [44, 50–51]. Так, в экспериментальной модели у кроликов ожога роговицы щелочью введение ММСК способствует регенерации участков ее повреждения, а сами ММСК экспрессируют молекулу цитокератина-3 (СК3), специфического маркера клеток эпителия роговицы. Более того, *in vitro* ММСК дифференцировались в клетки, которые морфологически и фенотипически напоминали эпителиоподобные клетки роговицы и были СК3-позитивны [50].

Известно, что лимбальная зона глаза является хранилищем стволовых/прогениторных клеток, локализующихся в базальном слое лимбального эпителия и обеспечивающих регенерацию и са-

мообновление роговицы [16–19, 25, 26, 36, 39, 54]. Однако при некоторых патологиях или травмах развивается лимбальная клеточная недостаточность, приводящая к нарушению процесса регенерации роговицы [39, 50, 51]. Дисфункция лимбального эпителия проявляется аномалией конъюнктивально-корнеальной регенерации с периферической неоваскуляризацией, наличием хронического дефекта эпителия, выраженного стромального воспаления и конъюнктивизации роговицы, когда прилежащий конъюнктивальный эпителий начинает проникать в строму роговицы. Клеточная терапия в таком случае основывается на проведении трансплантации лимба и лимбальных стволовых клеток.

В экспериментальных моделях дисфункции лимбального эпителия на кроликах в ходе терапии ММСК также была показана их дифференцировка в клетки эпителия роговицы [25, 51]. Экспрессия некоторых маркеров стволовой принадлежности, таких как аденозин-5-трифосфат-связывающий комплекс 2 (ABCG2), β 1-интегрин, коннексин 43 на клетках эпителия роговицы после трансплантации ММСК указывает, что они достигли характеристик стволовой принадлежности, некоторые ММСК трансдифференцировались в прогениторные клетки эпителия. Субконъюнктивальное введение ММСК при экспериментальном химическом ожоге роговицы у крыс приводит к быстрой эпителизации ожоговой раны, а механизмом их действия является подавление миграции макрофагов CD68+ в зону воспалительно-дегенеративного процесса и снижение экспрессии мРНК макрофагального воспалительного белка (MIP-1 α), фактора некроза опухоли- α (TNF- α) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [40].

При трансплантации ММСК человека в область повреждения роговицы у кроликов было показано, что ММСК выживают в месте введения, а также мигрируют в строму роговицы и дифференцируются не только в эпителиоциты, но и в другие типы клеток [11, 51]. О способности ММСК приживаться в месте введения свидетельствует работа, в которой интрастромальное введение ММСК дефицитным по экспрессии кератокана мышам приводило к выживанию ММСК в роговице, экспрессии кератокана, что, как полагают авторы, может быть использовано для терапии патологии роговицы, обусловленной дефицитом кератоцитов. Отмечена также выживаемость ММСК пуповинной крови в строме роговицы при интрастромальной трансплантации у мышей. Сокультивирование ММСК с клетками стромы роговицы *in vitro* индуцирует экспрессию СК12 и эффективно при терапии повреждений роговицы у мышей с дефицитом стволовых клеток лимба [27–45].

В то же время некоторые авторы указывают на неспособность ММСК трансдифференцироваться в эпителий роговицы *in vivo*. Сравнивая эффект трансплантации ММСК и стромальных клеток лимба, Yao и соавт. пришли к выводу, что данные типы клеток способствуют реконструкции повреждений роговицы, вызванных ожогом у кроликов. Авторы утверждают, что кератоциты не несут специфических маркеров, а имеют общие маркеры с ММСК. Таким образом, не обнаружено достаточных доказательств дифференцировки ММСК в эпителиальные клетки роговицы [50, 51]. Также при субконъюнктивальном введении ММСК не выявлено миграции клеток в область повреждения роговицы и трансдифференцировки в эпителий роговицы на экспериментальной модели химического повреждения роговицы у крыс [34]. Приведенные данные свидетельствуют, что гипотеза трансдифференцировки ММСК в реконструкции роговицы требует дальнейшего изучения.

Одним из возможных механизмов клинической эффективности терапии с помощью ММСК различных дегенеративно-воспалительных процессов может быть наличие у них противовоспалительного действия. Экспериментальные исследования также подтвердили факт наличия противовоспалительного действия у ММСК при повреждениях роговицы у лабораторных животных.

Показано, что культивированные на амниотической оболочке ММСК, трансплантированные в мембрану вокруг роговицы после химического ожога роговицы у крыс, способствуют снижению экспрессии CD45, матричной металлопротеиназы-2 (MMP-2), IL-2 и IFN- γ , являющихся провоспалительными факторами. При субконъюнктивальной инъекции в острой фазе химического ожога роговицы у крыс ММСК подавляют инфильтрацию области поражения макрофагами CD68+, что сопровождается снижением экспрессии провоспалительных цитокинов MIP-1 α и TNF- α . А внутрибрюшинное и внутривенное введение ММСК человека при химическом ожоге роговицы у крыс приводит к снижению воспалительной реакции. Полагают, что поврежденные эпителиальные клетки роговицы стимулируют ММСК к продукции TNF- α стимулированного гена / протеина 6 (TSG-6), белка с широким спектром противовоспалительного действия [51].

Другим механизмом, обеспечивающим эффективность введения ММСК, является воздействие на процессы ангиогенеза. Так, показано, что ММСК продуцируют VEGF и другие проангиогенные факторы и цитокины, стимулируют процессы ангиогенеза при моделировании ише-

мии и опухоли у животных [1, 18, 28, 30–32, 35]. В то же время введение ММСК не способствует ангиогенезу в роговице и оказывает противоположное действие [41]. Так, в некоторых исследованиях показано, что ММСК могут эффективно подавлять воспалительно-индуцированный ангиогенез после химического повреждения роговицы [41, 50]. При этом ММСК повышают экспрессию мощного антиангиогенного фактора тромбоспондина-1 (TSP-1) и подавляют экспрессию воспалительного проангиогенного фактора MMP-2. При этом продукция VEGF сопоставима в контрольных и опытных группах [50]. Снижение уровня VEGF отмечено и при субконъюнктивальном введении ММСК при химическом ожоге роговицы у крыс. Более того, ММСК конститутивно экспрессируют MMP-2 и TSP-1, а также подавляют секрецию MMP-9 клетками эпителия роговицы [41, 50]. VEGF, MMP-2 и MMP-9 являются проангиогенными факторами в роговице, а TSP-1 способен подавлять VEGF-индуцированный ангиогенез путем активации CD36, выступая в качестве мощного противовеса ряду факторов, стимулирующих ангиогенез [50]. Исследования других авторов показали, что однократное введение ММСК спустя 2 ч после индукции ожогового повреждения роговицы, а также обработка ожоговой раны кондиционной средой, полученной при культивировании ММСК, способствует уменьшению воспаления и неоваскуляризации в роговице. При этом отмечено снижение секреции провоспалительных цитокинов IL-2 и IFN- γ , повышение продукции противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β 1, увеличение экспрессии TSP-1 и снижение экспрессии MMP-2 [41].

Клиническую эффективность терапии ММСК может обеспечивать их иммуносупрессорная активность. Имеется большое количество исследований, посвященных подавлению реакций «трансплантат против хозяина» и «хозяин против трансплантата», опосредованных введением ММСК, полученных из различных источников [16]. Так, показано, что ММСК продлевают выживаемость трансплантата кожи, улучшают приживаемость сердца при трансплантации [50]. Отмечено, что чем ранее до пересадки органа начата терапия ММСК, тем лучше приживаемость органа.

Имуносупрессорные свойства ММСК могут быть учтены для предупреждения отторжения при трансплантации аллогенной роговицы. Показано, что при кератопластике роговицы крысам породы Lewis от крыс породы Wistar введение ММСК приводит к увеличению времени приживления и подавлению реакции отторжения, снижению экспрессии CD4, CD8 и CD25 в транс-

плантате [55]. В экспериментальной работе *in vitro* демонстрируется, что ММСК из лимба трупов человека имеют фенотип мезенхимальной принадлежности и секретируют растворимые факторы, подавляют иммунный ответ, опосредованный TCR-комплексом. Показано, что ММСК конститутивно продуцируют TGF β 1, а добавление нейтрализующих антител к TGF β RII восстанавливает пролиферацию Т-клеток. Более того, ММСК обладают рядом других функциональных свойств – способны трансдифференцироваться в нейроны, хондроциты, образовывать первичные сосудистые структуры в матрикеле в присутствии VEGF [25].

В работе Jia с соавт. отмечено, что при аллотрансплантации роговицы у крыс на фоне терапии ММСК возрастает пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на митогены, увеличивается количество регуляторных Т-лимфоцитов CD4+CD25+Foxp3+, что способствует приживлению трансплантата [29]. В следующем исследовании, в котором авторы пересаживали роговицу от мышей C57BL/6 (H-2b) мышам BALB/c (H-2d) с другим гаплотипом, предварительное внутривенное введение животным ММСК человека ослабляло раннее послеоперационное воспаление, уменьшая активацию антигенпрезентирующих клеток в роговице и близлежащих лимфатических узлах. Таким образом, отмечено подавление иммунного ответа, что приводит к удлинению времени приживления органа [40]. В аналогичной работе, выполненной на крысах разных линий, ММСК вводили после оперативного вмешательства, что привело к увеличению приживляемости трансплантата, снижению уровней провоспалительных цитокинов и активации регуляторных Т-клеток [50].

Выделенные ММСК из лимбальной ткани глаза человека имели типичный для ММСК фенотип и обладали иммуносупрессорным действием. Однако в ряде исследований показано не полное подавление Т-клеточной пролиферации *in vitro* и наличие экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса и CD45 на ММСК лимбальной ткани [18].

Различные физические или химические повреждения роговицы приводят к образованию рубца – основному осложнению при заживлении ран. Фибробласты роговицы (активированные стромальные кератоциты), как принято считать, являются основными медиаторами ответа в области повреждения целостности роговицы, что находится под контролем различных цитокинов и ростовых факторов [50]. Показано, что кондиционная среда, полученная при культивировании ММСК, содержащая различные биологически ак-

тивные вещества, может повлиять на репарацию роговицы – например, подавляя активность ее фибробластов *in vitro*, в том числе и миграцию. Более того, некоторые факторы, секретируемые ММСК, способствуют восстановлению роговицы [49]. Показано, что введенные внутривенно ММСК приживляются в поврежденной роговице и способствуют ее регенерации путем дифференцировки, пролиферации и синергизма с гемопоэтическими стволовыми клетками. Микроокружение способствовало дифференцировке ММСК в миофибробласты [52]. При моделировании повреждения роговицы ожогом показано, что введенные внутривенно ММСК проявляют эффект хоуминга в пораженные ткани, выживают там, приводя к регенерации эпителия [34]. При субконъюнктивальном введении ММСК оказывают противовоспалительное действие, ускоряя процессы регенерации ожога роговицы [50].

ММСК могут не только служить средством клеточной терапии, но и использоваться как питающий слой клеток для культивирования других типов клеток. Показано, что ММСК человека экспрессируют фактор роста кератиноцитов (KGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), необходимые для пролиферации клеток эпителия роговицы для их последующей трансплантации. Так, введение ММСК жировой ткани в дно раневой язвы пациенту с посттравматическим повреждением роговицы приводит к полному восстановлению целостности последней [43].

Таким образом, ММСК имеют потенциальную терапевтическую ценность в восстановлении роговицы, так как обладают противовоспалительным и модулирующим ангиогенез роговицы действием, способны как подавлять отторжение трансплантата, так и содействовать заживлению ран роговицы. Перед клиническим использованием ММСК должны быть решены вопросы выбора способа и срока их введения, выяснены конкретные механизмы действия, возможности трансдифференцировки в эпителиальные клетки роговицы, для чего необходимы дополнительные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов С.Э., Суббот А.М., Антохин А.И. и др. Персонализированная клеточная терапия в офтальмологии (II): цитокиновый профиль аутогенного клеточного продукта // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012. VII. (1). 49–53.
2. Баторов Е.В., Шевела Е.Я., Крючкова И.В. и др. Влияние мезенхимальных стромальных клеток на клиничко-лабораторные показатели эффективности трансплантации аутологичных гемопоэти-

ческих стволовых клеток у больных лимфомами // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2012. (3/2). 33–37.

3. Беляковский П.В., Лобанок Е.С. Перспективы применения стволовых клеток в офтальмологии // Офтальмология в Беларуси. 2009. (2). 81–91.

4. Кругляков П.В., Соколова И.Б., Зинькова Н.Н. и др. Дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток в кардиомиоцитарном направлении *in vitro* и *in vivo* // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2006. (4). 194–197.

5. Матюков А.А. Влияние интрамиокардиальной аутогенной трансплантации клеток костного мозга на перфузию ишемизированного миокарда в эксперименте // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2006. (3). 42–48.

6. Половников Е.В., Ступак В.В., Самохин А.Г. и др. Влияние мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2012. (3/2). 301–304.

7. Повещенко О.В., Колесников А.П., Ким И.И. и др. Способы выделения и условия культивирования мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека, полученной из различных источников // Бюл. СО РАМН. 2008. (5). 90–95.

8. Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Физиологические и цитологические основы клеточной регуляции ангиогенеза // Успехи физиологических наук. 2012. 43. (3). 48–61.

9. Черных Е.Р., Баторов Е.В., Шевела Е.Я. и др. Влияние мезенхимальных стромальных клеток на раннее восстановление лимфоцитов у больных злокачественными лимфомами с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток // Бюл. СО РАМН. 2011. 31. (2). 101–107.

10. Шевела Е.Я., Васильев И.А., Ступак В.В. и др. Мезенхимальные стромальные клетки в коррекции неврологического дефицита и морфологических изменений в модели очаговых повреждений головного мозга, индуцированных нарушением венозного кровотока // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2012. (3/2). 332–336.

11. Ahn W., Hong H.S., Zhang M. et al. Induction of mesenchymal to epithelial transition of circulating mesenchymal stem cells by conditioned medium of injured cornea // Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2013. 10. 86–92.

12. Ahrari I., Purhabibi Z.N., Khosravi M.M. et al. Adipose Tissue Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells Can Be Isolated Using Serum-free Media // Iran Red. Cres. Med. J. 2013. 15. 324–329.

13. Ankrum J.A., Ong J.F., Karp J.M. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged // Nat. Biotechnol. 2014. doi: 10.1038/nbt.2816.

14. Bojic S., Volarevic V., Ljubic B., Stojkovic M. Dental stem cells – characteristics and potential // Histol. Histopathol. 2014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24446280>.

15. Baker P.S., Brown G.C. Stem-cell therapy in retinal disease // *Current Opinion in Ophthalmology*. 2009. 20. 175–181.
16. Branch M.J., Hashmani K., Dhillon P. et al. Mesenchymal stem cells in the human corneal limbal stroma // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. (9). 5109–5116.
17. Bray L.J., Heazlewood C.F., Atkinson K. et al. Evaluation of methods for cultivating limbal mesenchymal stromal cells // *Cytherapy*. 2012. 14. (8). 936–947.
18. Bray L.J., Heazlewood C.F., Munster D.J. et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cell cultures derived from the limbus of human and rabbit corneas // *Cytherapy*. 2014. 16. (1). 64–73.
19. Chen S.Y., Mahabole M., Tseng S.C.G. Optimization of Ex Vivo Expansion of Limbal Epithelial Progenitors by Maintaining Native Niche Cells on Denuded Amniotic Membrane // *TVST*. 2013. <http://tvstjournal.org/doi/full/10.1167/tvst.2.7.1>.
20. Choudhery M.S., Badowski M., Muise A., Harris D.T. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue // *Cytherapy*. 2013. 15. (3). 330–343.
21. Das M., Sundell I.B., Koka P.S. Adult mesenchymal stem cells and their potency in the cell-based therapy // *J. Stem Cells*. 2013. 8. (1). 1–16.
22. Decot V., El Omar R., Beroud J. et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell based therapies? // *Tissue Eng. Part. B. Rev.* 2014.
23. Elisseeff J., Madrid M.G., Qiaozhi Lu Q. et al. Future Perspectives for Regenerative Medicine in Ophthalmology // *Middle East African J. Ophthalmology*. 2013. 20. 38–45.
24. Garfias Y., Nieves-Hernandez J., Garcia-Mejia M. et al. Stem cells isolated from the human stromal limbus possess immunosuppressant properties // *Mol. Vis.* 2012. 18. 2087–2095.
25. Gu S., Xing C., Han J. et al. Differentiation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells into corneal epithelial cells *in vivo* and *ex vivo* // *Mol. Vis.* 2009. 15. 99–107.
26. Holan V., Javorkova E., Trosan P. The growth and delivery of mesenchymal and limbal stem cells using copolymer polyamide 6/12 nanofiber scaffolds // *Methods Mol. Biol.* 2013. 1014. 187–199.
27. Hu N., Zhang Y.Y., Gu H.W., Guan H.J. Effects of bone marrow mesenchymal stem cells on cell proliferation and growth factor expression of limbal epithelial cells *in vitro* // *Ophthalmic Res.* 2012. 48. 82–88.
28. Ichim T.E., Solano F., Lara F. et al. Feasibility of combination allogeneic stem cell therapy for spinal cord injury: a case report // *Int. Arch. Med.* 2010. doi: 10.1186/1755-7682-3-30.
29. Jia Z., Jiao C., Zhao S. et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a rat corneal allograft rejection model // *Exp. Eye Res.* 2012. 102. 44–49.
30. Jin H.J., Bae Y.K., Kim M. et al. Comparative Analysis of Human Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Adipose Tissue, and Umbilical Cord Blood as Sources of Cell Therapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. 14. 17986–18001.
31. Johnson T.V., Bull N.D., Hunt D.P. et al. Neuroprotective Effects of Intravitreal Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Experimental Glaucoma // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010. 51. 2051–2059.
32. Jorgensen C., Deschaseaux F., Planat-Bernard V., Gabison E. Mesenchymal stem cells: A therapeutic update // *Med. Sci. (Paris)*. 2011. 27. (3). 275–284.
33. Kruglyakov P.V., Sokolova I.B., Zinkova N.N. et al. In vitro and in vivo differentiation of mesenchymal stem cells in the cardiomyocyte direction // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2006. 142. 503–506.
34. Lan Y., Kodati S., Lee H.S. et al. Kinetics and function of mesenchymal stem cells in corneal injury // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. 3638–3644.
35. Lee D.S., Hheo J.W., Cho H.J. et al. Combined corneal allotransplantation and vitreoretinal surgery using an Eeckardt temporary keratoprosthesis: analysis for factors determining corneal allograft survival // *Clinical Ophthalmology*. 2014. 8. 449–454.
36. Lim M.N., Hussin N.H., Othman A. et al. Ex vivo expanded SSEA-4+ human limbal stromal cells are multipotent and do not express other embryonic stem cell markers // *Mol. Vis.* 2012. 18. 1289–1300.
37. Lv F.J., Tuan R.S., Cheung K.M., Leung V.Y. The surface markers and identity of human mesenchymal stem cells // *Stem Cells*. 2014. doi: 10.1002/stem.1681.
38. Maggini J., Mirkin G., Bognanni I. et al. Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Turn Activated Macrophages into a Regulatory-Like Profile // *PLoS ONE*. 2010. 5. e9252.
39. Mahabole M., Tseng S.C.G. Optimization of Ex Vivo Expansion of Limbal Epithelial Progenitors by Maintaining Native Niche Cells on Denuded Amniotic Membrane // *TVST*. 2013. <http://tvstjournal.org/doi/full/10.1167/tvst.2.7.1>.
40. Oh J.Y., Roddy G.W., Choi H. et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 reduces inflammatory damage to the cornea following chemical and mechanical injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. 107. 16875–16880.
41. Oh J.Y., Kim M.K., Shin M.S. et al. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury // *Stem Cells*. 2008. 26. (4). 1047–1055.
42. Oie Y., Nishida K. Regenerative Medicine for the Cornea // *BioMed. Research International*. 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/428247>.
43. Omoto M., Miyashita H., Shimmura S. et al. The use of human mesenchymal stem cell-derived feeder cells for the cultivation of transplantable epithelial

sheets // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009. 50. 2109–2115.

44. Park S.H., Kim K.W., Chun Y.S., Kim J.C. Human mesenchymal stem cells differentiate into keratocyte-like cells in keratocyte-conditioned medium // Exp. Eye Res. 2012. 101. 16–26.

45. Ricciardi M., Malpeli G., Bifari F. et al. Comparison of epithelial differentiation and immune regulatory properties of mesenchymal stromal cells derived from human lung and bone marrow // PLoS ONE. 2012. 7. e35639.

46. Shalaby S.M., El-Shal A.S., Abd-Allah S.H. et al. Mesenchymal stem cell injection protects against oxidative stress in Escherichia coli-induced acute lung injury in mice // Cytotherapy. 2014. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.12.006.

47. Takacs L., Toth E., Berta A., Vereb G. Stem cells of the adult cornea: from cytometric markers to therapeutic applications // Cytometry A. 2009. 75. (1). 54–66.

48. Thomas V.J., Caterson B., Kao W.W. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells cures the corneal defects of Mucopolysaccharidosis VII mice // Stem Cells. 2013. doi: 10.1002/stem.1481.

49. Watson S.L., Marcal H., Sarris M. et al. The effect of mesenchymal stem cell conditioned media on corneal stromal fibroblast wound healing activities // Br. J. Ophthalmol. 2010. 94. 1067–1073.

50. Yao L., Bai H. Mesenchymal stem cells and corneal reconstruction // Molecular. Vision. 2013. 19. 2237–2243.

51. Yao L., Li Z.R., Su W.R. et al. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn // PLoS One. 2012. 7. (2). doi: 10.1371/journal.pone.0030842.

52. Ye J., Yao K., Kim J.C. Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: engraftment and involvement in wound healing // Eye (Lond). 2006. 20. 482–490.

53. Yeum C.E., Park E.Y., Lee S-B. et al. Quantification of MSCs involved in wound healing: use of SIS to transfer MSCs to wound site // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2013. 7. 279–291.

54. Zakaria N., Possemiers T., Ni Dhubhghaill S. et al. Results of a phase I/II clinical trial: standardized, non-xenogenic, cultivated limbal stem cell transplantation // J. Transl. Med. 2014. doi:10.1186/1479-5876-12-58.

55. Zhang X.M., Jiao C.N., Jia Z. et al. Investigation of the role of mesenchymal stem cells on keratoplasty rejection // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 2012. 48. (8). 733–738.

56. Zhang X.M., Li X.R. Potential applications of mesenchymal stem cells in ocular diseases // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 2012. 48. (10). 956–960.

MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS FOR THERAPY OF THE LIMBAL EPITHELIUM DYSFUNCTION

Olga Vladimirovna POVESHCHENKO¹, Aleksandr Fedorovich POVESHCHENKO¹, Aleksandr Petrovich LYKOV¹, Natalia Anatolievna BONDARENKO¹, Yulia Vladimirovna NIKONOROVA¹, Igor Borisovich DRUZHININ², Vladimir Iosifovich KONENKOV¹

¹ *Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630096, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

One way of the limbal epithelial dysfunction therapy is the cellular therapy with stem cells. Multipotent mesenchymal stromal cells are a class of stem cells, which are distributed in the various tissues and organs. Multipotent mesenchymal stromal cells have the potential for self-maintenance, capable to differentiate under certain conditions into other types of cells. Multipotent mesenchymal stromal cells have reparative potential as well as immunomodulating, anti-inflammatory and modulating angiogenesis action. These potential properties of multipotent mesenchymal stromal cells are valuable for the reconstruction of the cornea. The information on the use of multipotent mesenchymal stromal cells for the treatment of disease of the cornea is summarized in the review.

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, cornea, cellular therapy, regeneration, cytodifferentiation, limbal stromal cells.

Poveshchenko O.V. – candidate of medical sciences, head of the laboratory of cell technologies,
e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

Poveshchenko A.F. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of physiology of the protective system,
e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Lykov A.P. – candidate of medical sciences, leading researcher of the laboratory of cell technologies,
e-mail: lykovalex@freemail.ru

Bondarenko N.A. – candidate of biological sciences, junior researcher of the laboratory of cell technologies,
e-mail: bond802888@yandex.ru

Niconorova Yu.V. – junior researcher of the laboratory of cell technologies, e-mail: jvnik@mail.ru

Druzhinin I.B. – candidate of medical sciences, ophthalmologist

Konenkov V.I. – academician of RAS, doctor of medical sciences, director, e-mail: lymphology@soramn.ru

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СКЛЕРЫ У ПОВТОРНО ОПЕРИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ПСЕВДОЭКСФОЛИАТИВНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Ольга Николаевна КУЛЕШОВА^{1,2}, Анастасия Константиновна ЛАЗАРЕВА²,
Светлана Владимировна АЙДАГУЛОВА², Мария Андреевна ДИКОВСКАЯ¹,
Ольга Викторовна ЕРМАКОВА¹, Вероника Викторовна ДУЛИДОВА¹,
Маргарита Александровна ГЛОК¹

¹ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Цель исследования – изучить структурные особенности соединительной ткани склеры у повторно оперированных пациентов с первичной открытоугольной псевдоэксфолиативной глаукомой. Материал и методы: 49 образцов операционного материала 48 пациентов с первичной открытоугольной псевдоэксфолиативной глаукомой II–III стадии на фоне псевдоэксфолиативного синдрома, световая и электронная микроскопия. Результаты и обсуждение. У пациентов с первичной антиглаукомной операцией выявлены сравнительно низкая пролиферативная активность матрикс-продуцирующих клеток склеры, эластоз и псевдоэксфолиации в трабекулярной сети и наличие тучных клеток вблизи элементов дренажной системы. В склеральных лоскутах повторно оперированных пациентов обнаружены диффузные гранулемы с пролиферирующими фибробластами, наиболее многочисленными у края резекции.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, псевдоэксфолиативный синдром, повторная антиглаукомная операция, склеральный лоскут, соединительная ткань, электронная микроскопия.

Проблема слепоты и высокий уровень инвалидизации пациентов с глаукомой – наиболее приоритетные из нерешенных вопросов офтальмологии [2, 7]. Несмотря на достигнутые успехи консервативной терапии глаукомы, самым эффективным методом стабилизации глаукомного процесса является высокотехнологичное фистулизирующее хирургическое лечение, в том числе непроникающая глубокая склерэктомия, обеспечивающая отток внутриглазной жидкости (ВГЖ) [2].

Основное преимущество непроникающей глубокой склерэктомии заключается в сохранении внутреннего слоя трабекулы и участка обнаженной десцеметовой оболочки, что создает идеальные условия для управляемой фильтрации

ВГЖ в послеоперационном периоде. Тем не менее у 20–30 % больных в различные сроки после операции возникают декомпенсация внутриглазного давления (ВГД) и необходимость проведения повторных антиглаукомных операций [4, 6].

В результате применения офтальмологических методов визуализации установлено, что длительность и выраженность гипотензивного эффекта в послеоперационном периоде зависит от активности процесса рубцевания и облитерации хирургически созданных путей оттока ВГЖ. В связи с этим остро стоит вопрос долгосрочного прогнозирования исходов фистулизирующего хирургического лечения и поиска маркеров ускоренного фиброобразования зоны глубокой склерэктомии, в том числе в условиях псевдоэксфолиации

Кулешова О.Н. – д.м.н., врач-офтальмолог, проф. кафедры офтальмологии, e-mail: okuleshova64@gmail.com

Лазарева А.К. – студентка 6-го курса лечебного факультета

Айдагулова С.В. – д.б.н., проф., зав. лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции ЦНИЛ, e-mail: a_sv@ngs.ru

Диковская М.А. – врач-офтальмолог, зав. офтальмологическим отделением

Ермакова О.В. – врач-офтальмолог

Дулидова В.В. – врач-офтальмолог

Глок М.А. – врач-офтальмолог

тивного синдрома, рассматриваемого в качестве одного из ведущих предикторов развития глаукомного процесса [8].

Цель работы – исследование структурных особенностей соединительной ткани склеры у повторно оперированных пациентов с первичной открытоугольной псевдоэксфолиативной глаукомой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено комплексное офтальмологическое исследование и оперативное лечение 48 пациентов в возрасте от 40 до 86 лет с диагнозом «первичная открытоугольная псевдоэксфолиативная глаукома II–III стадии» и морфологическое изучение операционного материала. Первую группу составили 32 человека в возрасте $67,3 \pm 14,5$ года, впервые перенесшие антиглаукомное хирургическое вмешательство; вторую – 16 пациентов в возрасте $69,0 \pm 14,7$ года с антиглаукомным вмешательством в анамнезе (непроникающая глубокая склерэктомия), которым в связи с повышением ВГД в разные сроки от 2 до 13 лет была выполнена повторная операция – непроникающая глубокая склерэктомия или глубокая склерэктомия с применением антиглаукомного коллагенового дренажа «Ксенопласт» производства (Ксентек, ООО Дубна-Фарм, Москва). Все пациенты получали медикаментозную гипотензивную терапию. Офтальмологическое исследование включало в себя визометрию, авторефрактометрию, пахиметрию, тонометрию, сферопериметрию, гониоскопию, офтальмоскопию, ультразвуковую биомикроскопию (УБМ) и оптическую когерентную томографию (ОСТ).

Материалом для комплексного патоморфологического исследования 49 глаз 48 пациентов служили склеральные лоскуты, удаленные в ходе антиглаукомных операций. Операционный материал фиксировали в охлажденном до 4°C 4%-м растворе параформальдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,4), постфиксировали в 1 % растворе четырехоксида осмия и после дегидратации в серии спиртов и ацетоне заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB 8800 (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали 1%-м водным раствором толуидинового синего и изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 (Zeiss AG, Германия); ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу и анализировали с помощью электронных микроскопов JEM-100S и JEM-1400 (Япония).

Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Острота зрения до антиглаукомной операции у пациентов 1-й группы варьировала от светощущения с неправильной светопроекцией до 0,7; во 2-й группе – от 0,001 до 0,85. Снижение остроты зрения объяснялось наличием катаракты разной степени зрелости и глаукомной атрофией зрительного нерва: в 1-й группе 12 пациентов (37,5 %) и во 2-й группе 12 человек (75 %) имели неполную и полную осложненную катаракту, у всех обследованных была далеко зашедшая стадия глаукомы. Данные сферопериметрии: в 1-й группе показатель суммарного поля зрения составил $304,2 \pm 29,3$, во 2-й группе – $267,2 \pm 34,2$.

У пациентов 1-й группы уровень ВГД был повышенным или высоким ($25,3 \pm 6,45$ мм рт. ст.), и на фоне применения максимальной гипотензивной терапии ВГД не достигало целевого уровня или отмечались его колебания. Результаты оперативного лечения пациентов 2-й группы были неудовлетворительными: в разные сроки наблюдения у 6 человек (37,5 %) имело место повышение ВГД более 26 мм рт. ст. с прогрессирующим ухудшением зрительных функций, у остальных пациентов ВГД было компенсированным или субкомпенсированным ($24,8 \pm 5,32$ мм рт. ст.), но не достигало целевых значений.

При биомикроскопическом исследовании переднего отрезка глаза у всех пациентов отмечали признаки псевдоэксфолиативного синдрома: 2 стадия (появление эксфолиативных отложений) на худшем глазу – у 8 пациентов (25 %) 1-й группы и у 10 пациентов (62,5 %) 2-й группы и 1 стадия (разрушение пигментного слоя радужки) – в остальных случаях. Кроме того, отмечены краевая дистрофия роговицы и помутнение ядра и задних корковых слоев хрусталика.

При микрогониоскопии у всех пациентов визуализировались открытый угол передней камеры, выраженное снижение прозрачности трабекулы с отложением псевдоэксфолиативного материала, а также экзо- и эндогенная пигментация II–III степени. Зона предыдущего оперативного вмешательства определялась как участок с измененной структурой и непрозрачной трабекулой серо-белого цвета.

По данным УБМ, у пациентов после ранее проведенной антиглаукомной операции в зоне оперативного вмешательства отмечалось утолщение, смещение и прогибание трабекуло-десцеметовой мембраны, что отражало недостаточную

эффективность созданного пути оттока ВГЖ и невозможность поддержания ВГД на оптимальном уровне. При этом интрасклеральная зона операции не визуализировалась, фильтрационная подушка была плоской или отсутствовала, контур конъюнктивы сливался со склеральной поверхностью.

По данным ОСТ, в обеих группах отмечали патологическую (средней глубины и глубокую) экскавацию зрительного нерва, исчезновение нейроретинального пояса, уменьшение толщины слоя ганглиозных клеток сетчатки и перипапиллярных нервных волокон.

При проведении непроникающей глубокой склерэктомии у впервые оперированных пациентов операционный материал представлен частью трабекулы и юкстаканаликулярной ткани, задней стенкой шлеммова канала и глубокими слоями склеры. При светооптическом изучении полутонких срезов и электронной микроскопии ультратонких срезов эндотелиальная выстилка шлеммова канала на большем протяжении атрофирована и десквамирована, сохранившиеся клетки содержали гиперхромные ядра и редуцированную электронно-плотную цитоплазму. Юкстаканаликулярная трабекулярная ткань представлена тонкими извитыми коллагеновыми и эластическими волокнами, среди которых локализованы полиморфные матрикс-продуцирующие клетки и гетерогенные зерна пигмент-содержащих эксфолиаций (рис. 1, а).

При электронно-микроскопическом исследовании юкстаканаликулярной ткани (рис. 1, б) у впервые оперированных пациентов с открытоугольной псевдоэксфолиативной глаукомой отмечен ярко выраженный феномен эластоза – усиление осмиофильности и деструкция эластических волокон в сочетании с редукцией их микрофибриллярных компонентов. Эластоз сопровождался фрагментацией коллагеновых фибрилл и значительными деструктивными изменениями большинства матрикс-продуцирующих клеточных элементов. Эксфолиативный материал, представленный хлопьями варьирующей осмиофильности и зернами меланина, диффузно ингибировав юкстаканаликулярную ткань и глубоко проникал в плотные слои склеры.

В склеральном лоскуте у пациентов с первичной антиглаукомной операцией плотная волокнистая соединительная ткань образована преимущественно изоморфными массами коллагеновых волокон, в которых «замурованы» одиночные истонченные фиброциты и более редко встречающиеся фибробласты (рис. 2, а). Склеральные элементы дренажной системы глаза – коллекторные каналы и водяные вены – имели, как прави-

ло, резко суженные просветы; периваскулярные элементы клеточной инфильтрации в большинстве случаев отсутствовали. При этом важно отметить, что у пациентов в возрасте 40–50 лет, в отличие от пациентов более старшего возраста, к склеральным элементам дренажной системы приурочены достаточно многочисленные дегранирующие тучные клетки.

В отличие от клинических наблюдений с первичной операцией, у повторно оперированных пациентов резецированный склеральный лоскут представлен в основном перифокальным склеральным компартментом, сочетающимся в небольшом числе случаев с коротким фрагментом юкстаканаликулярной ткани; у двух пациентов зона повторного оперативного вмешательства

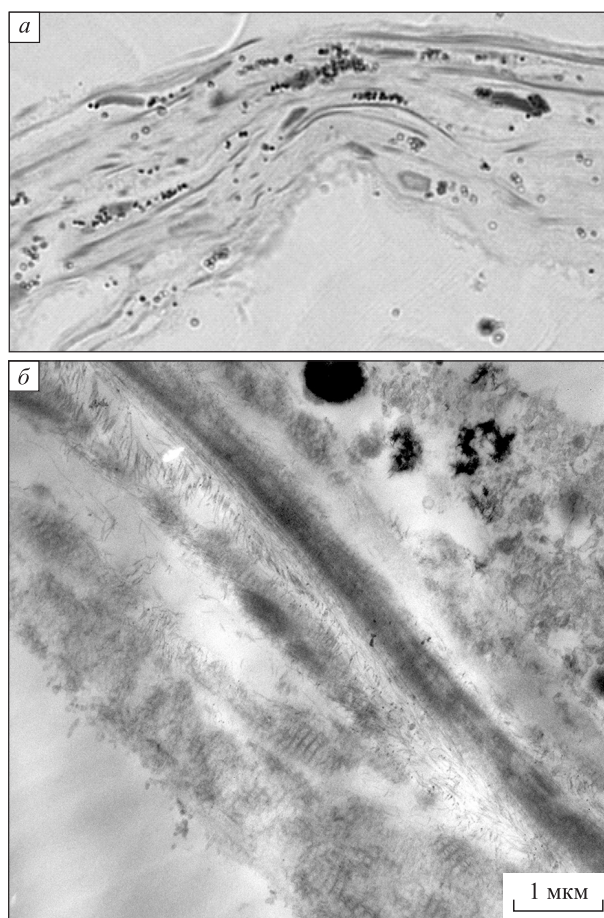


Рис. 1. Первичная открытоугольная псевдоэксфолиативная глаукома IIIВ стадии. Фрагмент склерального лоскута, первичная операция: а – шлеммов канал и трабекулярная сеть: полиморфизм клеточных элементов и волокон, множество зерен эксфолиативного материала, полутонкий срез, окраска толудиновым синим, ув. 850; б – электронная микроскопия того же образца: фрагментация коллагеновых фибрилл, осмиофилия эластических волокон, гетерогенность псевдоэксфолиаций, ув. 20 000

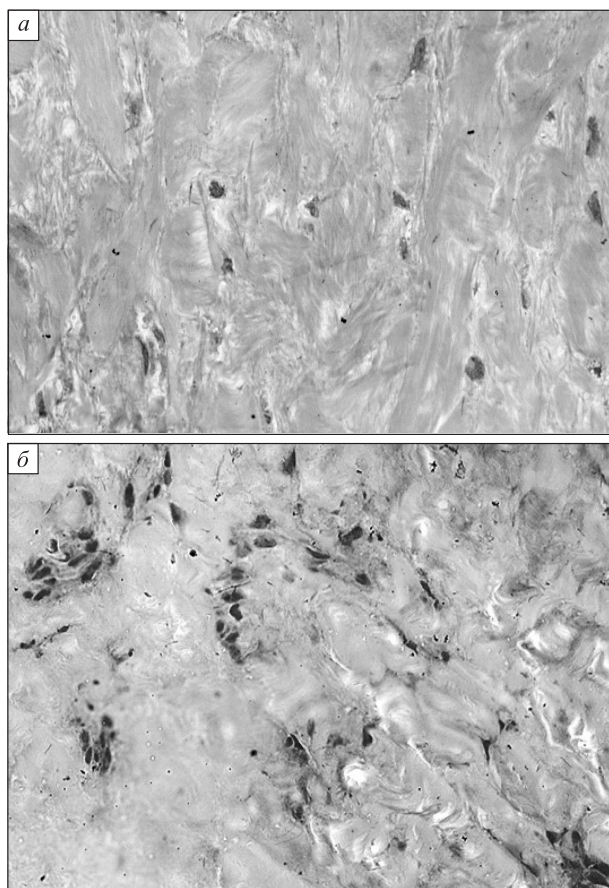


Рис. 2. Первичная открытоугольная псевдоэксфолиативная глаукома IIIВ стадии. Фрагменты склеральных лоскутов: а – первичная операция: одиночные фибробласты и фиброциты; б – повторная операция: скопления пролиферирующих фибробластов. Полутолстые срезы, окраска толуидиновым синим. Ув. 450

почти полностью соответствовала зоне первичной операции.

Все образцы склеры повторно оперированных пациентов резко отличались от образцов группы сравнения ярко выраженной пролиферативной активностью матрикс-продуцирующих клеток и полиморфизмом волокнистого компартамента соединительной ткани (рис. 2, б). Фибробласты локализовались среди гетерогенных по тинкториальным свойствам масс-коллагеновых волокон в виде многочисленных мелких и весьма крупных (до 20 клеток) скоплений и были представлены полиморфными клетками с относительно большими ядрами, с метахромазией цитоплазмы и экстрацеллюлярного матрикса. Наибольшая пролиферативная активность фибробластов наблюдалась вблизи зоны резекции и юстаканаликулярной ткани, как правило, соответствуя локализации склеральных элементов дренажной системы глаза. Клеточная инфильтрация была

представлена одиночными мононуклеарными клетками – мастоцитами и/или лимфоцитами. В целом в склеральных лоскутах повторно оперированных пациентов с первичной псевдоэксфолиативной глаукомой II–III стадии формировались мелкие диффузные гранулемы с ведущей ролью матрикс-продуцирующих клеточных элементов соединительной ткани и редуцированным сосудистым компонентом.

Несмотря на совершенствование методов антиглаукомных фистулизирующих операций, в том числе с применением местных противовоспалительных препаратов и высокотехнологичных дренажных конструкций, продолжается интенсивный поиск методов, способных препятствовать прогрессированию глаукомного процесса, который определяется особенностями ремоделирования соединительной ткани глаза конкретного пациента [1, 5, 9]. На избыточное формирование соединительнотканного рубца в зоне антиглаукомной операции влияют фиброгенные стимулы биологически активных субстанций, секретируемых и резидентными клеточными популяциями, и элементами клеточной инфильтрации, локализующимися в трабекуле и склере [3, 10, 11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для оценки патогенетической и диагностической значимости в глаукомном процессе морфологических изменений клеточных элементов и волокон соединительной ткани глаза проведено сравнительное светооптическое и электронномикроскопическое исследование структурных особенностей резецированного склерального лоскута у впервые и повторно оперированных пациентов с первичной открытоугольной псевдоэксфолиативной глаукомой II–III стадии. В склере пациентов с первичной антиглаукомной операцией выявлены сравнительно низкая пролиферативная активность матрикс-продуцирующих клеток, в трабекулярной сети – эластоз и скопления псевдоэксфолиативного материала; кроме того, наличие тучных клеток вблизи элементов дренажной системы глаза у пациентов нестарческого возраста может служить прогностическим маркером рефрактерности глаукомы. В склеральных лоскутах повторно оперированных пациентов обнаружены мелкие диффузные гранулемы с пролиферирующими фибробластами, наиболее многочисленные у края резекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева Л.Д., Журавлева А.Н. Распределение основных типов коллагена в склере глаукомных глаз // Рос. офтальмол. журн. 2009. 2. (2). 4–8.

2. Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Шуко А.Г. Национальное руководство по глаукоме. М., 2008. 217 с.
3. Кулешова О.Н., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В., Шведова Е.В. Ультраструктура эндотелия дренажной системы глаза // Бюл. экспер. биол. мед. 2008. 145. (5). 574–577.
4. Кулешова О.Н., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В. Анализ морфологических изменений юкстаканаликулярной ткани и склеры по операционному материалу при первичной ювенильной и открытоугольной глаукоме // Офтальмохирургия. 2008. (3). 12–15.
5. Acott T.S., Kelley M.J. Extracellular matrix in the trabecular meshwork // Exp. Eye. Res. 2008. 86. 543–561.
6. Clark A.F. The cell and molecular biology of glaucoma: biomechanical factors in glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012. 53. (5). 2473–2475.
7. Kokotas H., Kroupis C., Chiras D. et al. Biomarkers in primary open angle glaucoma // Clin. Chem. Lab. Med. 2012. 50. (12). 2107–2119.
8. Schlotzer-Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome / glaucoma – new insights from LOXL1 gene associations // Exp. Eye Res. 2009. 88. (4). 776–785.
9. Sihota R., Goyal A., Kaur J. et al. Scanning electron microscopy of the trabecular meshwork: Understanding the pathogenesis of primary angle closure glaucoma // Indian J. Ophthalmol. 2012. 60. (3). 183–188.
10. Tamm E.R. The trabecular meshwork outflow pathways: Structural and functional aspects // Exp. Eye Res. 2009. 88. 648–655.
11. Watanabe Y., Hamanaka T., Takemura T., Murakami A. Involvement of platelet coagulation and inflammation in the endothelium of Schlemm's canal // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (1). 277–283.

SCLERAL CONNECTIVE TISSUE FEATURES IN RE-OPERATED PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE PSEUDOEXFOLIATIVE GLAUCOMA

**Olga Nikolaevna KULESHOVA¹, Anastasiya Konstantinovna LAZAREVA²,
Svetlana Vladimirovna AIDAGULOVA², Maria Andreevna DIKOVSKAYA¹,
Olga Viktorovna ERMAKOVA¹, Veronika Viktorovna DULIDOVA¹,
Margarita Aleksandrovna GLOK¹**

¹ S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10

² Novosibirsk State Medical University
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

Objective. To study scleral connective tissue structural properties in patients with primary open-angle pseudoexfoliative glaucoma underwent repeat surgery. **Material and methods.** 49 surgical scleral specimens of 48 patients with primary open-angle pseudoexfoliative of II–III stage glaucoma; light and electron microscopy. **Results and discussion.** The relatively low proliferative activity of matrix-producing scleral cells, elastosis and pseudoexfoliations in the trabecular meshwork and the mast cells localization near the drainage system elements were found in the patients with primary anti-glaucoma surgery. The diffuse granulomas with proliferative fibroblasts were found in the scleral samples of patients underwent repeat surgeries, especially numerous – near the resection margin.

Key words: primary open-angle glaucoma, pseudoexfoliative syndrome, repeated anti-glaucoma surgery, scleral sample, connective tissue, transmission electron microscopy.

Kuleshova O.N. – doctor of medical science, professor of the chair for ophthalmology, ophthalmologist,
e-mail: okuleshova64@gmail.com

Lazareva A.K. – student of 6 year of the faculty for general medicine

Aidagulova S.V. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory for cellular biology
and fundamental basis of reproduction, e-mail: a_sv@ngs.ru

Dikovskaya M.A. – head of the ophthalmology department, ophthalmologist

Ermakova O.V. – ophthalmologist

Dulidova V.V. – ophthalmologist

Glok M.A. – ophthalmologist

ДИСБАЛАНС ЦИТОКИНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА В СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ ПАЦИЕНТОВ С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ¹, Александр Николаевич ТРУНОВ^{1,2},
Егор Викторович ВАРВАРИНСКИЙ¹, Евгений Валерьевич СМИРНОВ¹,
Дмитрий Валерьевич ЧЕРНЫХ¹, Ольга Олеговна ОБУХОВА²,
Ольга Михайловна ГОРБЕНКО², Аля Петровна ШВАЮК²

¹ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России,
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Исследованы образцы стекловидного тела 32 глаз пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией и тракционной отслойкой сетчатки и 25 глаз пациентов с тракционной отслойкой сетчатки (группа сравнения). Определены концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора пигментного эпителия (PEDF), моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), интерлейкинов 4, 6, 8, 10, 17A и секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в стекловидном теле. Установлено достоверное повышение концентрации VEGF, PEDF, ИЛ-17A, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1 в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией. Проведенное исследование показало, что в механизмах развития данного заболевания значимую роль играет активность сосудистой пролиферации и местного иммуновоспалительного процесса, а выявленные коррелятивные взаимосвязи между изучаемыми показателями свидетельствуют о сопряженности этих процессов в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: пролиферативная диабетическая ретинопатия, стекловидное тело, цитокины, факторы роста.

Одним из самых тяжелых специфических поражений глаза при сахарном диабете остается диабетическая ретинопатия. Известно, что ее распространенность во многом зависит от длительности течения патологического процесса, полноты проведения комплексного лечения и может достигать 80–90 %. Прогрессирование диабетической ретинопатии может осложняться рецидивирующими внутриглазными кровоизлияниями, фиброзом сетчатки и стекловидного тела, тракционной отслойкой сетчатки, атрофией зрительного нерва, что приводит к развитию необратимой слепоты [1, 2, 6, 11, 13, 23].

В последние годы большое значение в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии уделяется факторам роста

сосудистого эндотелия, а также другим биологически активным субстанциям, обладающим как ангиогенной, так антиангиогенной активностью (фактора пигментного эпителия и др.) [3, 7, 16, 19, 28]. В ряде научных публикаций показано, что у пациентов с данной патологией выявлены нарушения, свидетельствующие о значимости в ее патогенезе активности воспалительного процесса, нарушений функционального состояния иммунной системы, включая дисбаланс цитокинов, матричных металлопротеиназ, в том числе и во взаимосвязи с активацией сосудистой пролиферации [4, 5, 12, 17, 24, 25].

Несмотря на активное изучение механизмов возникновения и развития диабетической ретинопатии, многие аспекты ее патогенеза требуют

Черных В.В. – д.м.н., проф., директор, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Трунов А.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Варваринский Е.В. – врач-офтальмолог, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Смирнов Е.В. – к.м.н., врач-офтальмолог, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Черных Д.В. – врач-офтальмолог, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Обухова О.О. – д.м.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: trio@yandex.ru

Горбенко О.М. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Шваюк А.П. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: trunov1963@yandex.ru

дальнейшего исследования, а данные, имеющие-ся в настоящее время, о роли дисбаланса, про-, противовоспалительных и регуляторных цитокинов во взаимосвязи с активацией синтеза факторов, активирующих пролиферацию, остаются дискуссионными.

Все вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования – изучить содержание фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора пигментного эпителия (PDEF) и некоторых цитокинов, определяющих активность воспалительного и пролиферативного процессов, в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике Новосибирского филиала ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова. У всех пациентов получено информированное согласие на проведение операции и забор стекловидного тела, а также использование данных исследования в научных целях.

Обследовано 63 пациента (63 глаза), прошедших хирургическое лечение по поводу тракционной отслойки сетчатки на базе Новосибирского филиала ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова в период с 2011 по 2012 г. Средний возраст равнялся $52,6 \pm 4,5$ года. Количество женщин в обследованной группе составило 34, мужчин – 29. Все пациенты в зависимости от наличия пролиферативной диабетической ретинопатии были разделены на 2 группы.

Основную группу составили 38 пациентов (38 глаз) с пролиферативной диабетической ретинопатией и тракционной отслойкой сетчатки. Средний возраст пациентов – $50,5 \pm 3,2$ года. Количество женщин в группе – 22, мужчин – 16. Сахарный диабет 1 типа был у 8 пациентов, 2 типа – у 30 человек, стаж заболевания – более 8 лет. Группу сравнения составили 25 пациентов (25 глаз) с тракционной отслойкой сетчатки, не болевших сахарным диабетом и, соответственно, не имевших признаков диабетической ретинопатии. Средний возраст пациентов – $53,5 \pm 2,6$ года. Количество женщин в группе – 12, мужчин – 13. Указанное позволило при сходном уровне повреждения, связанного с отслойкой сетчатки, определить изменения концентраций изучаемых показателей в стекловидном теле, связанные с наличием у пациентов диабетической ретинопатии.

Диагноз пролиферативной диабетической ретинопатии выставлен на основании проведенного обследования, включающего визометрию, определение границ поля зрения и наличия скотом,

бинокулярной офтальмоскопии с использованием налобного офтальмоскопа Heine Omega 200 (Германия) и линзы 20 Дптр, щелевой лампы Karl Zeiss SL 115 Classic (Германия) и линзы Ocular Max Field (США) 78 Дптр, двухмерного ультразвукового сканирования на установке Tomey UD 1000 (Япония).

Критерием включения пациентов в основную группу являлось наличие у них сахарного диабета и пролиферативной диабетической ретинопатии, в группу сравнения – отсутствие сахарного диабета и диабетической пролиферативной ретинопатии. Критерием исключения для обеих групп служило наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, первичной открытоугольной глаукомы, увеита различной этиологии, а также аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации.

Пациенты обеих групп во время предоперационной подготовки и в послеоперационный период получали стандартную схему терапии, принятую в Новосибирском филиале ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова: наклоф 0,1 % раствор (глазные капли), дексаметазон 0,1 % раствор (глазные капли) – инстилляцией в конъюнктивальный мешок по одной капле 3 раза в сутки в течение 10 дней, тобрекс 0,3 % раствор (глазные капли) – субконъюнктивально по одной капле 2 раза в сутки в течение 14 дней, тропикамид 1 % раствор (глазные капли) инстилляцией в конъюнктивальный мешок по одной капле 3 раза в сутки в течение 7 дней.

Оперативное лечение отслойки сетчатки пациентам обеих групп проводили по стандартной методике задней трехпортовой витрэктомии 25G, 23G с использованием операционных систем «Constellation Vision System» (Alcon, США), «Stellaris PC» (Bausch+Lomb, США), Assistant (Optikon, Италия). В качестве исследуемого материала использовали стекловидное тело, забранное на начальных этапах витрэктомии. Для исключения попадания бессолевого раствора материал забирали на фоне воздушной тампонады. Далее проводили мобилизацию сетчатки, фиксации сетчатки перфторорганическим соединением, эндолазеркоагуляцию. Во всех случаях витрэктомия была завершена тампонадой силиконовым маслом. Полученный биологический материал центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин, образовавшийся надосадочный слой замораживали при -40 °С. Образцы были использованы для анализа в течение 6 месяцев после сбора.

В стекловидном теле с помощью коммерческих тест-систем для ИФА по инструкции произ-

водителя определяли содержание VEGF, MCP-1 («Вектор-Бест», Россия), PDEF («CUSABIO», КНР), ИЛ-17А, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 («Цитокин», Россия). Результаты регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан», Россия, при длине волны 450 нм.

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в таблицах в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Корреляцию показателей вычисляли по методу Спирмена. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований были получены данные, представленные в табл. 1.

Концентрация VEGF, играющего значимую роль в механизмах активации ангиогенеза, в стекловидном теле пациентов основной группы была более чем в 17 раз выше, чем у пациентов группы сравнения ($p < 0,001$). Полученные результаты в целом согласуются с данными, имеющимися в научной литературе [7, 16, 26, 27].

Интересными представляются данные, полученные при определении содержания PDEF, обладающего мощной антиангиогенной активностью за счет способности ингибировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток: в стекловидном теле пациентов основной группы оно в 1,45 раза превышало величину показателя в стекловидном теле пациентов группы сравнения ($p < 0,05$). Полученные нами результаты входят

в некоторое противоречие с данными, представленными в научной литературе. Так, в ряде исследований было выявлено увеличение содержания VEGF и уменьшение концентрации PDEF в стекловидном теле у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией [15, 16, 18]. Возможно, данные особенности зависят от сроков возникновения и развития пролиферативной диабетической ретинопатии и требуют более тщательного анализа. Установленное повышение содержания PDEF, вероятно, можно рассматривать как компенсаторное и направленное на снижение активности ангиогенеза, но не эффективное, поскольку не приводит к его подавлению.

Концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-17А в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией была в 4,5 раза выше величины показателя пациентов с тракционной отслойкой сетчатки без признаков пролиферативной диабетической ретинопатии ($p < 0,01$). Учитывая, что секретируемый активированными Т-клетками ИЛ-17А способен стимулировать синтез целого пула провоспалительных цитокинов (TNF- α , ИЛ-1 β), молекул межклеточной адгезии и других биологически активных веществ [10, 21], представляется значимой роль активности местного воспалительного процесса в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии. Это заключение подтверждается данными, полученными при определении содержания других провоспалительных цитокинов.

В стекловидном теле пациентов основной группы выявлено повышение содержания ИЛ-6 в 1,9 раза ($p < 0,01$) относительно пациентов группы сравнения. ИЛ-6 – провоспалительный цитокин, являющийся значимым фактором в процессах хронизации воспалительных процессов и развития аутоиммунного реагирования [14]. Аналогичная закономерность обнаружена и для ИЛ-8 – хемокина, играющего важную роль в развитии деструктивно-воспалительных процессов различного генеза в местах повреждения. Его концентрация в стекловидном теле пациентов основной группы была в 1,9 раза выше величины показателя пациентов группы сравнения ($p < 0,05$). Полученные результаты в целом подтверждают немногочисленные данные, представленные в научной литературе, об изменениях содержания изучаемых цитокинов у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией [5, 24, 26, 27].

Учитывая существующие экспериментальные данные об ангиогенной активности MCP-1, сопоставимой с активностью VEGF и связываемой авторами с интенсивным рекрутингом макрофагов, а также способностью цитокина индуцировать

Таблица 1

Содержание изучаемых показателей в стекловидном теле пациентов обследованных групп ($M \pm m$, нг/мл)

Показатель (содержание)	Группа сравнения, $n = 25$	Основная группа, $n = 38$
VEGF	$88,8 \pm 27,7$	$1520,1 \pm 178,3^*$
PDEF	$190,4 \pm 8,3$	$279,1 \pm 42,7^*$
ИЛ-17А	$67,6 \pm 4,6$	$311,2 \pm 98,2^*$
ИЛ-4	$8,1 \pm 0,5$	$32,5 \pm 9,4^*$
ИЛ-6	$32,8 \pm 8,7$	$64,2 \pm 14,6^*$
ИЛ-8	$28,7 \pm 1,23$	$55,4 \pm 16,7^*$
ИЛ-10	$4,47 \pm 0,24$	$4,43 \pm 0,69$
MCP-1	$447,1 \pm 35,8$	$990,6 \pm 108,6$

* Отличие от величины соответствующего показателя группы сравнения достоверно при $p < 0,05$.

хемотаксис человеческих эндотелиальных клеток, действуя как прямой медиатор ангиогенеза [8, 22], значимыми представляются данные, полученные при определении содержания МСР-1 в стекловидном теле пациентов обследованных групп. Концентрация МСР-1 в стекловидном теле пациентов основной группы была в 2,2 раза выше величины показателя пациентов группы сравнения ($p < 0,01$). Данный факт позволяет предположить, что в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии активация ангиогенеза связана не только с повышенным синтезом VEGF. Указанное согласуется с результатами ряда исследований, свидетельствующих о повышении содержания МСР-1 при пролиферативной диабетической ретинопатии, и мнением авторов о роли этого белка в индукции ангиогенеза в условиях воспаления [26, 27].

По концентрации в стекловидном теле ИЛ-10, цитокина, обладающего иммуносупрессорными свойствами и участвующего в регуляции синтеза VEGF, пациенты обследованных групп не различались. Вероятно, это может быть связано с истощением компенсаторных механизмов. Полученные данные отличаются от имеющихся в научной литературе, которые свидетельствуют о повышении у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией содержания ИЛ-10, по мнению авторов, играющего значимую роль в ее патогенезе [24].

Концентрация ИЛ-4 в стекловидном теле пациентов основной группы была в 4 раза выше величины показателя у пациентов группы сравнения ($p < 0,01$). Полученные данные можно рассматривать не только как компенсаторный механизм, направленный на снижение активности

воспалительного процесса, но и как свидетельство активации гуморального звена иммунной системы и развития аутоиммунного реагирования при диабетической ретинопатии. Кроме того, высокая концентрация ИЛ-4 в стекловидном теле свидетельствует об участии этого цитокина в фибропластических процессах, играющих значимую роль в развитии пролиферативной диабетической ретинопатии, что согласуется с данными, представленными в литературе о значимости ИЛ-4 в этих процессах [9, 20].

При проведении корреляционного анализа были получены результаты, представленные в табл. 2. Выявленные коррелятивные взаимосвязи свидетельствуют о сопряженности активности воспалительного процесса и сосудистой пролиферации в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глазные проявления диабета / Ред. Л.И. Балашевич. СПб., 2004. 382 с.
2. Либман Е.С., Шахова Е.В. Слепота и инвалидность вследствие патологии органа зрения в России // Вестн. офтальмологии. 2006. (1). 35–37.
3. Слепова О.С., Нероев В.В., Илюхин П.А., Сарыгина О.И. Иммунологический контроль при хирургическом лечении больных с пролиферативной диабетической ретинопатией с предварительным интравитреальным введением Луцентиса // Рос. офтальмологич. журн. 2012. (1). 69–74.
4. Черных В.В., Лысиков А.Г., Обухова О.О. и др. Особенности местного иммуновоспалительного процесса при непролиферативной диабетической ретинопатии // Вестн. НГУ. 2011. 9. (1). 164–168.
5. Черных В.В., Варваринский Е.В., Горбенко О.М. и др. Активность местного воспалительного и пролиферативного процесса в патогенезе диабетической ретинопатии // Бюл. СО РАМН. 2013. 33. (5). 60–64.
6. Bhavsar A.R. Diabetic retinopathy: the latest in current management // Retina. 2006. 26. (6). 71–79.
7. Citirik M., Kabatas E.U., Batman C. et al. Vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in proliferative diabetic retinopathy versus proliferative vitreoretinopathy // Ophthalmic Res. 2012. 47. (1). 7–12.
8. Goede V., Brogelli L., Ziche M., Augustin H.G. Induction of inflammatory angiogenesis by monocyte chemoattractant protein-1 // Int. J. Cancer. 1999. 82. (5). 765–770.
9. Kanellakis P., Ditiatkovski M., Kostolias G., Bobik A. A pro-fibrotic role for interleukin-4 in cardiac pressure overload // Cardiovasc. Res. 2012. 95. (1). 77–85.

Таблица 2

Значимые ($p < 0,05$) коррелятивные взаимосвязи между содержанием изучаемых показателей в стекловидном теле пациентов с диабетической ретинопатией

Показатель 1	Показатель 2	Коэффициент корреляции r
VEGF	ИЛ-17А	0,45
VEGF	ИЛ-8	0,48
VEGF	ИЛ-4	0,51
PEDF	ИЛ-17А	0,48
PEDF	ИЛ-8	0,59
PEDF	МСР-1	0,72
ИЛ-17А	ИЛ-8	0,59
ИЛ-17А	ИЛ-4	0,65
ИЛ-4	ИЛ-8	0,71
ИЛ-8	МСР-1	0,45

10. Kang M.H., Kim M.K., Lee H.J. et al. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases // J. Korean Med. Sci. 2011. 26. (7). 938–944.
11. Kollias A.N., Ulbig M.W. Diabetic retinopathy: Early diagnosis and effective treatment // Dtsch. Arztebl. Int. 2010. 107. (5). 75–83.
12. Kowluru R.A., Zhong Q., Kanwar M. Metabolic memory and diabetic retinopathy: role of inflammatory mediators in retinal pericytes // Exp. Eye Res. 2010. 90. (5). 617–623.
13. Lim A., Stewart J., Chui T.Y. et al. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy in a multi-racial underserved population // Ophthalmic Epidemiol. 2008. 15. (6). 402–409.
14. Neurath M.F., Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer // Cytokine Growth Factor Rev. 2011. 22. (2). 83–89.
15. Matsuoka M., Ogata N., Minamino K., Matsuura M. Expression of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in fibrovascular membranes from patients with proliferative diabetic retinopathy // Jpn. J. Ophthalmol. 2006. 50. (2). 116–120.
16. Mohan N., Monickaraj F., Balasubramanyam M. et al. Imbalanced levels of angiogenic and angiostatic factors in vitreous, plasma and postmortem retinal tissue of patients with proliferative diabetic retinopathy // J. Diabetes Complications. 2012. 26. (5). 435–441.
17. Murugeswari P., Shukla D., Rajendran A. et al. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and Eales' disease // Retina. 2008. 28. (6). 817–824.
18. Ogata N., Nishikawa M., Nishimura T. et al. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy // Am. J. Ophthalmol. 2002. 134. (3). 348–353.
19. Pennock S., Kazlauskas A. Vascular endothelial growth factor A competitively inhibits platelet-derived growth factor (PDGF)-dependent activation of PDGF receptor and subsequent signaling events and cellular responses // Mol. Cell Biol. 2012. 32. (10). 1955–1966.
20. Postlethwaite A.E., Holness M.A., Katai H., Raghov R. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4 // J. Clin. Invest. 1992. 90. (4). 1479–1485.
21. Regan D.P., Aarnio M.C., Davis W.S. et al. Characterization of cytokines associated with Th17 cells in the eyes of horses with recurrent uveitis // Vet. Ophthalmol. 2012. 15. (3). 145–152.
22. Salcedo R., Ponce M.L., Young H.A. et al. Human endothelial cells express CCR2 and respond to MCP-1: direct role of MCP-1 in angiogenesis and tumor progression // Blood. 2000. 96. (1). 34–40.
23. Sadaka A., Giuliani G.P. Proliferative vitreoretinopathy: current and emerging treatments // Clin. Ophthalmol. 2012. 6. 1325–1333.
24. Suzuki Y., Nakazawa M., Suzuki K., Yamazaki H., Miyagawa Y. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion // Jpn. J. Ophthalmol. 2011. 55. (3). 256–263.
25. Symeonidis C., Papakonstantinou E., Androudi S. et al. Interleukin-6 and the matrix metalloproteinase response in the vitreous during proliferative vitreoretinopathy // Cytokine. 2011. 54. (2). 212–217.
26. Wakabayashi Y., Usui Y., Okunuki Y. et al. Correlation of vascular endothelial growth factor with chemokines in the vitreous in diabetic retinopathy // Retina. 2010. 30. (2). 339–344.
27. Wakabayashi Y., Usui Y., Okunuki Y. et al. Increases of vitreous monocyte chemoattractant protein 1 and interleukin 8 levels in patients with concurrent hypertension and diabetic retinopathy // Retina. 2011. 31. (9). 1951–1957.
28. Wakabayashi Y., Usui Y., Okunuki Y. et al. Intraocular VEGF level as a risk factor for postoperative complications after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012. 53. (10). 6403–6410.

IMBALANCE CONTENT OF THE CYTOKINES AND GROWTH FACTORS IN VITREOUS FROM PATIENTS WITH PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY

**Valery Vyacheslavovich CHERNYKH¹, Aleksandr Nikolaevich TRUNOV^{1,2},
Yegor Victorovich VARVARINSKY¹, Evgeny Valerievich SMIRNOV¹,
Dmitry Valerievich CHERNYKH¹, Olga Olegovna OBUKHOVA²,
Olga Mikhailovna GORBENKO², Alja Petrovna SHVAYUK²**

¹ *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

² *Research Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS
63011, Novosibirsk, Timakov str., 2*

32 samples of vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and traction retinal detachment and 25 samples of vitreous of patients with traction retinal detachment (control) were investigated. The concentrations of vascular endothelial growth factor, pigment epithelium-derived factor, monocyte chemoattractant protein-1, and interleukin 4, 6, 8, 10, 17A in the vitreous were studied. The significant increase in the concentrations of vascular endothelial growth factor, pigment epithelium-derived factor, IL-17A, IL-8, IL-6, MCP-1, IL-4 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy were revealed. The study showed that the important role in the mechanisms of development of proliferative diabetic retinopathy plays the activity of vascular proliferation and local immuno-inflammatory process. Identified correlations testify to the relationship of these processes.

Key words: proliferative diabetic retinopathy, vitreous, cytokines, growth factors.

Chernykh V.V. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

*Trunov A.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on scientific work,
e-mail: trunov1963@yandex.ru*

Varvaranskiy Ye.V. – ophthalmologist, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Smirnov E.V. – candidate of medical sciences, ophthalmologist, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Chernykh D.V. – ophthalmologist, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Obukhova O.O. – doctor of medical sciences, leading researcher, e-mail: trio@yandex.ru

Gorbenko O.M. – candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Shvayuk A.P. – candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: trunov1963@yandex.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И СУБЪЕКТИВНОЙ УДОВЛЕТВОРЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНИЗОМЕТРОПИИ

Борис Эдуардович МАЛЮГИН¹, Сергей Андреевич КОКИН²,
Елизавета Михайловна ПОЖАРИЦКАЯ³

¹ ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, 59А

² ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, кафедра офтальмологии
127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

³ ФГБОУ ДПО ИПК ФМБА России, кафедра офтальмологии
125310, г. Москва, Волоколамское шоссе, 91

Цель исследования – определение оптимального уровня анизометропии при двусторонней коррекции афакии монофокальными линзами. Материал и методы. 126 пациентов, поделенных на 4 группы в зависимости от степени анизометропии от 0,5 до –3,25 дптр. Анализировалась острота зрения, контрастная чувствительность, качество зрительной жизни и субъективная удовлетворенность. Результаты и обсуждение. Во всех группах отмечались высокие значения остроты зрения вдаль; при анизометропии от –1,25 до –1,75 острота зрения на промежуточном расстоянии была достоверно выше, чем в других группах; зрение вблизи было достоверно выше в группах с большей анизометропией.

Ключевые слова: коррекция афакии, анизометропия, моновизуальная коррекция.

ВВЕДЕНИЕ

Восстановление функциональной активности зрительного анализатора на различных расстояниях без дополнительной очковой коррекции представляет собой одно из перспективных направлений в развитии хирургии катаракты.

Методом, позволяющим получить высокие зрительные функции на различных расстояниях с помощью монофокальных интраокулярных линз (ИОЛ), является асимметричная коррекция. Суть метода заключается в том, что один глаз (ведущий) корригируется для зрения вдаль, другой (парный) слегка миопизируется для зрения вблизи. Данный вид коррекции позволяет получить «одновременное» зрение вдаль, вблизи и на среднем расстоянии и имеет существенные плюсы, к которым относятся простота и доступность монофокальных линз. К минусам метода относятся индивидуальная непереносимость анизометропии, сложность при расчетах необходимой силы ИОЛ, снижение остроты зрения вдаль на глазу с искусственно созданной миопической рефрак-

цией, профессиональные требования к высокому бинокулярному и стереоскопическому зрению.

Первые сведения об интраокулярной коррекции данным способом встречаются в литературе уже в 1979 г. в работах А.И. Ивашиной и соавт.; метод и по сей день не теряет актуальности [1, 2]. По данным Moorfields IOL Study Group, монофокальная асимметричная коррекция афакии является методом, приводящим к высокой остроте зрения как вдаль, так и вблизи, с отсутствием послеоперационных жалоб, характерных для двухсторонней мультифокальной коррекции [3]. Показано, что удовлетворенность двусторонней коррекцией афакии у пациентов с пресбиопией выше при использовании технологии асимметричной имплантации монофокальных линз в сравнении с двухсторонней коррекцией мультифокальными линзами. В последнем случае потеря контрастной чувствительности и оптические феномены (гало, ореолы) значительно снижают удовлетворенность пациентов [4]. Также концепция асимметричной коррекции зрения нашла широкое применение при контактной кор-

Малюгин Б.Э. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе

Кокин С.А. – аспирант

Пожарицкая Е.М. – ассистент кафедры офтальмологии

рекции пресбиопии [5–7] и ряде рефракционных операций [8, 9].

При асимметричной коррекции афакии монофокальными ИОЛ фундаментальным этапом является определение целевой рефракции для ведущего и парного глаза. Этот выбор должен быть оптимальным для обеспечения зрения вдаль и вблизи без дополнительной очковой коррекции при минимальной степени анизометропии. В литературных источниках по этому вопросу нет однозначного мнения. Так, по данным А.И. Ивашиной и соавт., оптическая сила ИОЛ для зрения вблизи должна превышать на 2,0–2,5 дптр оптическую силу ИОЛ эметропичного глаза [1, 2]. Другие авторы считают, что оптимальная степень анизометропии составляет около 1,25 дптр [10]; согласно М. Ito и соавт., миопия парного глаза должна быть в пределах от 1 до 2,5 дптр [11]; J. Xiao и соавт. определяет приемлемой разницу в рефракции обоих глаз до 2,75 дптр [12]. Согласно работе К. Hayashi и соавт., по методике бинокулярной асимметричной коррекции афакии достигаются высокие зрительные функции вдаль, вблизи и на среднем расстоянии при эметропичной рефракции доминантного глаза и миопизации парного глаза в пределах 1,5–2,0 дптр [13]. По исследованиям К. Naeser и соавт., оптимальной степенью анизометропии для успешной асимметричной коррекции афакии монофокальными линзами следует считать 1 дптр [14].

Таким образом, анализ данных литературы выявил большой разброс, от 1,0 до 2,75 дптр, в указании уровня анизометропии для успешной асимметричной коррекции, гарантирующей высокую остроту зрения как на дальнем, так на близком расстояниях.

Цель исследования – определение оптимального уровня анизометропии при двусторонней коррекции афакии монофокальными линзами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ клинико-функциональных результатов и субъективной удовлетворенности 126 пациентов (252 глаза), прооперированных в головной организации МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, Москва. Анализ проводили через один год и более после операции факоэмульсификации катаракты ОУ с асимметричной коррекцией афакии монофокальными линзами. В 94 случаях была имплантирована ИОЛ модели Micro AY (PhysIOL, Бельгия), в 102 – ИОЛ модели AcrySof Natural (Alcon, США) и в 56 – ИОЛ модели AcrySof IQ (Alcon). Течение послеоперационного периода у пациентов было спокойным, роговица

прозрачна, радужная оболочка спокойна, ИОЛ занимала правильное центральное положение в капсульном мешке во всех случаях.

Возраст пациентов варьировал от 65 до 81 лет ($71,8 \pm 6,7$ года). Пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от величины послеоперационной анизометропии: у 35 пациентов группы А она не превышала $-0,5$ дптр ($0,31 \pm 0,07$ дптр), у 33 пациентов группы Б составляла от $-0,75$ до $-1,0$ дптр ($0,87 \pm 0,13$ дптр), у 31 пациента группы В – от $-1,25$ до $-1,75$ дптр ($1,53 \pm 0,2$ дптр), у 27 пациентов группы Б – от $-2,0$ до $-3,25$ дптр ($2,38 \pm 0,57$ дптр). Анализировалась острота зрения вдаль, вблизи и на среднем расстоянии (0,66–1 м); контрастная чувствительность измерялась на приборе Optec 6500 (США). Качество жизни и субъективную удовлетворенность оценивали по жалобам пациентов, потребности в очковой коррекции на различных расстояниях, а также индивидуальному тестовому опроснику качества жизни VF 14 Visual Function. VF-14 состоит из 18 вопросов, касающихся 14 видов повседневной деятельности: чтения мелкого шрифта, чтения шрифта обычной величины, чтения газеты или книги, узнавания других людей, дорожных знаков и указателей, шитья, заполнения квитанции, возможности играть в настольные игры, заниматься спортом, самостоятельно готовить пищу, а также просмотра телевизионных передач, вождения автомобиля в условиях нормальной и сниженной освещенности. На основании субъективных ответов респондентов рассчитывается суммарный рейтинг, отражающий взгляд больного на состояние своих зрительных функций.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измерения остроты зрения проводились бинокулярно без коррекции. Средние сроки обследования составили $15,4 \pm 3,3$ месяца. Значения остроты зрения у пациентов в зависимости от величины послеоперационной анизометропии представлены в табл. 1.

Исследование контрастной чувствительности проводилось при зрении вдаль отдельно для каждого глаза и при бинокулярном зрении. Для этих же пациентов измерения проводились с полной очковой коррекцией для зрения вдаль. По результатам исследования строились диаграммы

Таблица 1

Острота зрения вдаль, на среднем расстоянии и вблизи

Группа пациентов	Острота зрения		
	Вдаль	На среднем расстоянии	Вблизи
Группа А	0,97±0,14	0,42±0,15	0,13±0,12
Группа Б	0,98±0,16	0,56±0,13	0,2±0,14
Группа В	0,98±0,13	0,86±0,15	0,75±0,15
Группа Г	0,94±0,11	0,5±0,09	0,88±0,16

контрастной чувствительности для разных пространственных частот (1, 3, 5, 6, 12 и 18 цикл/градус). Установлено, что контрастная чувствительность уменьшалась по мере увеличения степени анизометропии (табл. 2).

Жалобы пациентов группы А сводились к затруднению при использовании средней дистанции (компьютер, рассматривание ценников в магазине на расстоянии 0,66–1 м), а также вблизи (чтение книг, журналов, использование мобильных устройств). В данной группе потребность очковой коррекции для близи понадобилась 92 % пациентов (32 человека), она составила +2,6±0,38 дптр. Пациенты группы Б предъявляли сходные жалобы – это затруднение при чтении и использовании средней дистанции. Очковая коррекция в среднем составила +1,75±0,66 дптр и потребовалась у 75 % пациентов (25 человек). В группе В жалобы пациентов сводились к недостаточному зрению вблизи, зрение на среднем расстоянии ни у одного пациента жалоб не вызвало. Потребность в коррекции для близи была у 15 % пациентов (5 человек), очковая коррекция составила +0,75±0,35 дптр. В группе Г один пациент нуждался в очковой коррекции +0,75 дптр. Жалобы пациентов данной группы сводились к затруднению при использовании средней дистанции (компьютер, рассматривание ценников в магазине), и 53 % пациентов (15 человек) для зрения на среднем расстоянии была выписана очковая коррекция. Жалоба на зрение вблизи была в одном случае – пациент нуждался в очковой коррекции для близи в сфере своей профессиональной деятельности (работник текстильной индустрии).

Значительные различия отмечались по оценке качества зрительной жизни по опроснику VF-14. Самые высокие результаты отмечены в группах В и Г – 91,9±0,09 и 82,9±0,11 баллов соответственно. В группе А средний результат составил 58,3±±0,15 балла, в группе Б пациенты оценивали качество своей зрительной жизни в 71,1±0,16 балла.

Таблица 2

Величина контрастной чувствительности бинокулярно

Группа пациентов	Цикл/градус				
	1,5	3	6	12	18
Группа А	83,1	95,2	79,6	54,3	14,9
Группа Б	80,6	96,4	81,6	57,3	13,2
Группа В	79,4	94,9	76,3	57,7	14,5
Группа Г	78,7	91,3	74,1	53,5	12,3
Нормативные показатели	70–90	75–95	77–99	50–90	70–14

В результате проведенного исследования выявлены следующие закономерности: независимо от степени анизометропии во всех группах отмечались высокие значения остроты зрения вдаль (0,94–0,98). При анизометропии от –1,25 до –1,75 (группа В) острота зрения на промежуточном расстоянии (0,66–1 м) была достоверно выше, чем в других группах ($p < 0,05$). Самые высокие показатели остроты зрения наблюдались в группе Г. По результатам измерения контрастной чувствительности отмечено, что с увеличением степени анизометропии ухудшаются показатели контрастной чувствительности. Это объясняется тем, что исследование контрастной чувствительности базируется на исследованиях вдаль. В случае с полной очковой коррекцией монокулярные значения контрастной чувствительности ведущего и парного глаза совпадают. Также следует отметить наличие эффекта бинокулярной суммации при сравнении бинокулярных и монокулярных показателей.

По жалобам опрошенных установлено, что пациенты группы В (величина анизометропии от –1,25 до –1,75 дптр) испытывали наименьшую потребность в очковой коррекции. По результатам индивидуального тестирования только пациенты групп В и Г были удовлетворены полученными результатами. В группе А и Б пациенты испытывали затруднения при работе на близком расстоянии («Чтение мелкого шрифта, такого как на этикетках лекарственных препаратов, в телефонных книгах, на этикетках продовольственных товаров», «Чтение газет или книг», «Выполнение мелкой ручной работы наподобие шитья, вязания, вышивания, работ по дереву», «Заполнение бланков и квитанций»).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод билатеральной асимметричной коррекции афакии монофокальными интраокулярными линзами эффективен для достижения вы-

соких бинокулярных функций вдаль при степени анизометропии от $-0,5$ до $-3,25$ дптр, вблизи при степенях анизометропии от $-1,25$ до $-3,25$ дптр и на среднем расстоянии при степенях анизометропии от $-1,0$ до $-3,0$ дптр. Наилучшие показатели зрения на различных расстояниях определяются при средней анизометропии $-1,53 \pm 0,2$ дптр. Также пациенты с данной степенью анизометропии предъявляют наименьшее количество жалоб, испытывают наименьшую необходимость в дополнительной очковой коррекции и показывают самые высокие результаты по оценке качества зрительной жизни и субъективной удовлетворенности. Таким образом, основываясь на данных проведенного исследования, оптимальной для полноценного зрения на всех расстояниях при двусторонней коррекции афакии монофокальными линзами следует считать степень анизометропии в промежутке от $-1,0$ до $-2,0$ дптр.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ивашина А.И., Борисова Л.М. Выбор оптической силы интраокулярной линзы при бинокулярной астигматизации // Экспериментальная и клиническая офтальмохирургия: сб. науч. тр. М., 1979. 135–139.
2. Ивашина А.И., Косточкина М.В. Физиология зрения вблизи при астигматизации // Экспериментальная и клиническая офтальмохирургия: сб. науч. тр. М., 1979. 127–133.
3. Wilkins M.R., Allan B.D., Rubin G.S. et al. Moorfields IOL Study Group. Randomized trial of multifocal intraocular lenses versus monovision after bilateral cataract surgery // Ophthalmology. 2013 Dec. 120 (12). 2449–2455.
4. Laroche L. Actuality in cataract treatment // Rev. Prat. 2013 Jan. 63 (1). 43–47.
5. Durrie D.S. The effect of different monovision contact lens powers on the visual function of emmetropic presbyopic patients // Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 2006 December. 104. 366–401.
6. Chapman G.J., Vale A., Buckley J. et al. Adaptive gait changes in long-term wearers of contact lens monovision correction // Ophthalmic. Physiol. Opt. 2010 May. 30 (3). 281–288.
7. Wick B., Westin E. Change in refractive anisometropia in presbyopic adults wearing monovision contact lens correction // Optom. Vis. Sci. 1999 Jan. 76 (1). 33–39.
8. Reinstein D.Z., Carp G.I., Archer T.J., Gobbe M. LASIK for presbyopia correction in emmetropic patients using aspheric ablation profiles and a micro-monovision protocol with the Carl Zeiss Meditec MEL 80 and VisuMax // J. Refract. Surg. 2012 Aug. 28 (8). 531–541.
9. Alarcón A., Anera R.G., Villa C. et al. Visual quality after monovision correction by laser in situ keratomileusis in presbyopic patients // J. Cataract. Refract. Surg. 2011 Sep. 37 (9). 1629–1635.
10. Jain S., Arora I., Azar D.T. Success of monovision in presbyopes: review of the literature and potential applications to refractive surgery // Surv. Ophthalmol. 1996 May-Jun. 40 (6). 491–499. Review.
11. Ito M., Shimizu K., Iida Y., Amano R. Five-year clinical study of patients with pseudophakic monovision // J. Cataract. Refract. Surg. 2012 Aug. 38 (8). 1440–1445.
12. Xiao J., Jiang C., Zhang M. Pseudophakic monovision is an important surgical approach to being spectacle-free // Indian J. Ophthalmol. 2011 Nov.-Dec. 59 (6). 481–485.
13. Hayashi K., Yoshida M., Manabe S., Hayashi H. Optimal amount of anisometropia for pseudophakic monovision // J. Refract. Surg. 2011 May. 27 (5). 332–338.
14. Naeser K., Hjortdal J.O., Harris W.F. Pseudophakic monovision: optimal distribution of refractions // Acta Ophthalmol. 2013. May 7.

COMPARATIVE EVALUATION OF CLINICAL AND FUNCTIONAL OUTCOMES AND SUBJECTIVE SATISFACTION IN PATIENTS WITH VARIOUS DEGREES OF ANISOMETROPIA

**Boris Eduardovich MALYUGIN¹, Sergey Andreevich KOKIN²,
Elizaveta Mikhailovna POZHARITSKAYA³**

¹ *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
127486, Moscow, Beskudnikovskiy boulevard, 59A*

² *Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov
127473, Moscow, Delegatskaya str., 20/1*

³ *Institute for Advanced Studies of Federal Medical – Biological Agency of Russia
125310, Moscow, Volokolamskoe highway, 91*

Aim: to determine the optimal level of anisometropia in bilateral aphakia correction with monofocal lenses. Material and methods: 126 patients were divided into 4 groups according to the degree of anisometropia from 0.5 to –3.25 diopters. Visual acuity, near and middle distance, contrast sensitivity, visual quality of life and subjective satisfaction were analyzed. Results: high visual acuity values were revealed in all groups; the visual acuity at intermediate distance was significantly higher at anisometropia from 1.25 to 1.75 than in the other groups; near vision was significantly higher in the groups with higher anisometropia.

Key words: correction of aphakia, anisometropia, monovisual correction.

Malyugin B.E. – doctor of medical sciences, professor, deputy director for scientific work

Kokin S.A. – postgraduate student

Pozharitskaya E.M. – teaching assistant of the chair for ophthalmology

ДИАБЕТИЧЕСКАЯ РЕТИНОПАТИЯ И ГИПЕРТОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ: КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОМОРБИДНОСТИ И РАЦИОНАЛЬНОЙ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ

Назир Сагдуллаевич ХОДЖАЕВ, Ксения Евгеньевна КУНТЫШЕВА

*ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, 59А*

В статье оценивается роль артериальной гипертензии в прогрессировании диабетической ретинопатии и возможные рациональные терапевтические подходы, а также особенности влияния ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), заключающиеся в снижении эндотелиальной дисфункции. Обзор современной литературы подтверждает значимость и целесообразность разработки эффективной методики медикаментозной коррекции и профилактики прогрессирования диабетической ретинопатии у больных гипертонической болезнью на основе применения ингибиторов АПФ.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, артериальная гипертензия, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, патофизиология.

Масштабность и медико-социальная значимость проблемы сахарного диабета (СД) обусловлена нарастающей тенденцией роста численности больных, достигшей в России в 2012 г. более 3 млн человек. При этом выборочные эпидемиологические исследования, проведенные в различных городах России, показали, что фактическая распространенность СД 2 типа в 3–4 раза превышает зарегистрированную [4, 12]. Артериальная гипертензия (АГ) наряду с гиперлипидемией рассматривается как наиболее значимый неблагоприятный фактор прогноза течения заболевания [19].

АГ расценивается как коморбидный фактор, отягощающий течение СД за счет значительного увеличения риска развития осложнений, наиболее частым из которых является диабетическая ретинопатия (ДР) [22, 24] и встречается в 15–90 % случаев спустя 5–7 лет от начала заболевания СД и в 100 % – через 10 лет [4, 20]. При инсулиннезависимом СД АГ регистрируется в 2–3 раза чаще, чем среди населения в целом [4, 17].

В оценке изменений глазного дна, обусловленных АГ, получила распространение классификация М.М. Краснова, согласно которой изменения сосудов, носящие в основном функциональный характер, оценивают как гипертоническую ангиопатию сетчатки, изменения в сосудах органического характера – как гипертонический ангиосклероз сетчатки, вовлечение в процесс ткани сетчатки, диска зрительного нерва – как гипертоническую ретинопатию, или нейроретинопатию.

Основным офтальмоскопическим признаком в картине глазного дна является изменение сосудов сетчатки в виде увеличения или уменьшения их калибра, частичной или полной облитерации. Сосудистые изменения в сетчатке проявляются также в виде микроаневризм, трансудации и экссудации [1, 2, 8]. Офтальмологическая картина на первых двух стадиях ДР такая же, как при гипертонической ретинопатии (расширение вен первого–третьего порядка, появление микроаневризм), что говорит о близком средстве морфофункциональных точек приложения указанных нозологий и объясняет взаимоусугубляющий характер патологических процессов при их одновременном течении [8, 16].

АГ способствует активации основных генов, обуславливающих синтез и/или экспрессию эндотелиальными клетками биологически активных веществ: фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина-1 (IL-1), макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), моноцитарного хемоаттрактантного протеина (MCP-1), трансформирующего фактора (TF), молекулы сосудистой клеточной адгезии 1 (VCAM-1), молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1), E-селектина и ряда других. Освещены работы, где при АГ выявляется активация генетического материала эндотелиальных клеток, приводящая к существенному изменению параметров функционирования эндотелия, что может служить одной из главных причин формирования эндотелиальной дисфункции при АГ [9].

*Ходжаев Н.С. – д.м.н., проф., зав. Центром по научно-клинической работе с филиалами
Кунтышева К.Е. – аспирант, e-mail: ksenia-ek@yandex.ru*

Патоморфологические изменения в начальной транзиторной стадии гипертонической ангиоретинопатии заключаются в гипертрофии мышечного слоя и эластических структур в мелких артериях и артериолах. Стабильная АГ приводит к гипоксии, эндотелиальной дисфункции, плазматическому пропитыванию сосудистой стенки с последующим гиалинозом и артериолосклерозом [3]. В тяжелых случаях фибриноидный некроз артериол сопровождается тромбозом, геморрагиями и микроинфарктами ткани сетчатки, что фактически дублирует морфофункциональные изменения при диабетической ретинопатии [3, 8]. Неоднократное подтверждение данного факта нашел в последующих исследованиях. В частности, Ф.Е. Шадричевым [14] прогрессирование ДР выявлено в 48,7 % случаев в группе пациентов со средним уровнем систолического давления выше 160 мм рт. ст., в то время как при среднем уровне систолического давления ниже 160 мм рт. ст. – лишь в 31,4 % случаев ($p = 0,006$).

На основании результатов широких клинических исследований показано, что частота возникновения и степень тяжести ретинопатии у пациентов, страдающих СД 2 типа, четко взаимосвязаны с высоким уровнем артериального давления [21, 22]. В подтверждение этой парадигмы можно представить результаты, свидетельствующие о том, что снижение систолического артериального давления на 10 мм рт. ст. при СД 2 типа приводит к значительному уменьшению риска развития ретинопатии [18, 23].

С научной и практической точки зрения большой интерес представляет проблема выбора патогенетически ориентированных методов лечения ДР, предусматривающих стабилизацию углеводного обмена, АГ и офтальмологических изменений, имеющих единую патогенетическую основу [13, 22, 23]. Данное направление исследований в последние годы приобретает чрезвычайную актуальность в связи с созданием и широким применением новых групп антигипертензивных фармпрепаратов, имеющих в качестве точки приложения функциональные структуры, изменения в которых влияют на целый ряд сосудистых факторов, в том числе принимающих участие в процессах неоваскуляризации [10, 11]. Следовательно, решение проблемы эффективной профилактики и лечения ДР невозможно без учета патогенетических аспектов коморбидности и должно преследовать цель сбалансированного и целенаправленного воздействия на общие звенья процесса.

Для лечения АГ предложено большое количество фармакологических препаратов, многие из которых уже не используются. Это связано пре-

жде всего с различными вариантами самой АГ, а также сочетанием ее с другими заболеваниями. Выбор для конкретного больного сахарным диабетом соответствующих гипотензивных препаратов и их доз, добавление в ходе лечения иных лекарств или полная замена прежней лекарственной терапии новой – все это относится к задачам врача.

В настоящее время для лечения гипертонической болезни применяются следующие группы антигипертензивных препаратов: тиазидные диуретики, β -адреноблокаторы, антагонисты кальция, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), блокаторы АТ1-ангиотензиновых рецепторов, блокаторы α_1 -адренорецепторов, агонисты центральных α_2 -адренорецепторов и агонисты I_1 -имидазолиновых рецепторов [23]. В индивидуально подобранных дозах препараты, относящиеся к различным фармакологическим группам, оказывают одинаковое воздействие на уровень АД, однако они различаются по влиянию на углеводный обмен, что имеет решающее значение для больных сахарным диабетом.

Антигипертензивные препараты можно разделить на три основные группы в зависимости от их влияния на углеводный обмен: 1) препараты, оказывающие неблагоприятное влияние на углеводный обмен (диуретики, за исключением индапамида, и β -адреноблокаторы); 2) препараты, не оказывающие существенного влияния на углеводный обмен (индапамид, β -адреноблокаторы с вазодилатирующими свойствами, антагонисты кальция, блокаторы АТ1-ангиотензиновых рецепторов, агонисты центральных α_2 -адренорецепторов); 3) препараты, оказывающие некоторое благоприятное влияние на углеводный обмен (ингибиторы АПФ, α_1 -адреноблокаторы и агонисты I_1 -имидазолиновых рецепторов).

Учитывая влияние антигипертензивных препаратов на углеводный обмен, при лечении артериальной гипертензии у больных сахарным диабетом без сопутствующих поражений сердца и почек следует использовать в первую очередь ингибиторы АПФ, блокаторы α_1 -адренорецепторов и агонисты I_1 -имидазолиновых рецепторов.

Из перечисленных фармакологических групп доказано взаимодействие ингибиторов АПФ с эндотелиальными сосудистыми факторами, в то время как агонисты I_1 -имидазолиновых рецепторов оказывают центральное гипотензивное действие через возбуждение I_1 -имидазолиновых рецепторов в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, а α -адреноблокаторы, препятствуя прохождению сосудосуживающих импульсов через адренергические синапсы, вызывают за счет этого расширение артериол и прекапилляров.

В настоящее время установлено, что СД и АГ являются структурными единицами единого метаболического синдрома и имеют общую патогенетическую основу – нарушение функции ренин-ангиотензиальдостероновой системы, ведущее впоследствии к сосудистым осложнениям [5–7].

В ряде исследований установлена взаимосвязь концентрации инсулина в крови и состояния ренин-ангиотензиальдостероновой системы, позволяющая предположить ее причинную роль по отношению к пусковым звеньям патогенеза ДР при СД в сочетании с АГ [5–7]. Механизм действия ангиотензина II сводится к выраженной вазоконстрикции, пролиферации, повышению прооксидантной и протромбогенной активности, стимуляции симпатoadренальной системы, нарушению гомеостаза жидкости [15]. Хроническая гиперактивация РАС является важнейшим фактором развития эндотелиальной дисфункции. Повышение активности АПФ, расположенного на поверхности эндотелиальных клеток, катализирует распад брадикинина. Уменьшение стимуляции брадикининовых рецепторов эндотелия приводит, в свою очередь, к уменьшению продукции эндотелий-зависимого фактора релаксации – оксида азота [10].

Механизм положительного действия ингибиторов АПФ на дисфункцию эндотелия связан не только с модулирующим его влиянием на метаболизм брадикинина и улучшением функции β 2-рецепторов, но также со способностью этого препарата восстанавливать нормальную деятельность мускариновых рецепторов эндотелия, что приводит к опосредованной дилатации артерий за счет рецептор-зависимого увеличения синтеза оксида азота [10, 13]. В реализации вазопротекторных эффектов ингибиторов АПФ особое значение имеет способность уменьшать выраженность дисфункции эндотелия, что проявляется снижением содержания наиболее мощного эндогенного вазоконстриктора эндотелина-1 и повышением уровня оксида азота [13, 23].

Также установлено, что у больных с метаболическим синдромом ингибиторы АПФ эффективно нормализуют АД и оказывают выраженное вазопротекторное действие в результате снижения жесткости и повышения упругости крупных артерий [10, 23]. В ряде западно-европейских стран препараты группы ингибиторов АПФ регистрируются по дополнительным показаниям для лечения диабетической ретинопатии [22]. В последние годы в литературе появились сообщения, дающие основание считать их препаратами выбора у больных СД в сочетании с АГ и подтверждающих объективную необходимость введения в длительную базисную терапию [13]. Поэтому

в лечении сосудистых осложнений СД в первую очередь целесообразно использовать ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента [13, 22].

Таким образом, диабетическую ретинопатию и гипертоническую ангиопатию следует рассматривать как взаимоусугубляющие нозологические единицы, и терапевтические подходы должны строиться на основе многофакторного патогенетического воздействия назначаемых лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Астахов Ю.С., Шадричев Ф.Е., Лисочкина А.Б. Диабетическая ретинопатия // Клинические рекомендации. Офтальмология / Ред. Л.К. Мошетьева, А.П. Нестеров, Е.А. Егоров. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 139–163.
2. Астахов Ю.С., Шадричев Ф.Е., Лисочкина А.Б. Диабетическая ретинопатия // Клиническая офтальмология. 2004. 5. (2). 85–92.
3. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль дисфункции эндотелия и окислительного стресса в механизмах развития ангиопатий при сахарном диабете типа 2 // Кардиология. 2004. (7). 90–97.
4. Гаджиева А.М. Медико-социальные аспекты инвалидности вследствие патологии органа зрения при сахарном диабете: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1993.
5. Диденко В.А., Симонов Д.В. Связь концентрации инсулина в крови с состоянием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и клинической картины гипертонической болезни // Терапевт. арх. 1999. (1). 26–31.
6. Диденко В.А. Особенности патогенеза, клинического течения и терапии артериальной гипертонии, ассоциированной с метаболическим синдромом: автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2001.
7. Зимин Ю.В. Происхождение, диагностическая концепция и клиническое значение синдрома инсулинорезистентности или метаболического синдрома Х // Кардиология. 1998. (6). 71–81.
8. Мальцев Э.В., Родин С.С., Черняева С.Н., Махмуд М.Р. Диабетическая ретинопатия: механизмы развития // Офтальмол. журн. 2003. (2). 82–88.
9. Поливода С.Н. Фактор Виллебранда как маркер эндотелиальной дисфункции у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы // Укр. ревматологич. журн. 2000. (1). 13–17.
10. Преображенский Д.В. Фозиноприл – первый представитель нового поколения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента // Кардиология. 2000. (5). 75–82.
11. Преображенский Д.В. Успехи и неудачи в разработке новых подходов к медикаментозной те-

- рапии хронической сердечной недостаточности // Кардиология. 2000. (4). 67–76.
12. Сунцов Ю.И., Кудрякова С.В., Болотская Л.Л. Значение Государственного регистра больных сахарным диабетом в развитии диабетологической службы // Сахарный диабет. 2002. (1). 28–31.
13. Чазова И.Е. Применение ингибиторов АПФ в лечении артериальной гипертонии // Рус. мед. журн. 2000. (15–16). 610–613.
14. Шадричев Ф.Е. Диабетическая ретинопатия // Соврем. оптометрия. 2008. (4). 36–42.
15. Dzau V.J., Gibbons G.H., Pratt R.E. Molecular mechanisms of vascular renin-angiotensin system in myointimal hyperplasia // Hypertension. 1991. 18 (4). 100–105.
16. Klein R., Klein B., Moss S. et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes // Ophthalmology. 1998. 105 (10). 1801–1815.
17. Lithell H.O. Effect of antihypertensive drugs on insulin, glucose, and lipid metabolism // Diabetes Care. 1991. 14. (3). 203–209.
18. Mahtab H., Kibriya M.G., Mahtab F.U. Microvascular complications in Bangladeshi type-2 diabetic individuals: Birdem Diabetes Care and Complication Study // Diabetologia. 2001. 44. (1). 285.
19. Stratton I.M., Adler A.I., Neil A.W. et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study // Br. Med. J. 2000. 321. 405–412.
20. Thomann U., Buchi E.R., Suppiger M. et al. Age-dependent phenotypic expression of a pattern dystrophy of the retina // Eur. J. Ophthalmol. 1995. (5). 107–112.
21. Turner R.C., Millns H., Neil H.A.W. et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom prospective diabetes study (UKPDS 23) // Br. Med. J. 1998. 316. 823–828.
22. UK Prospective Diabetes Study: UKPDS VIII. Study design, progress and performance // Diabetologia. 1991. 34. (12). 877–890.
23. World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee // J. Hypertens. 1999. 17. 151–183.
24. Zicchelli P. Calcium channel blockers in diabetic nephropathy is there life after the ABCD trial Nephrol // Dial. Transplant. 1998. 13. 1930–1932.

DIABETIC RETINOPATHY AND HYPERTENSION: CLINICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF COMORBIDITY AND RATIONAL DRUG CORRECTION

Nazir Sagdulaevich HODJAEV, Ksenia Evgenievna KUNTYSHEVA

*The S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Intersectional Science & Technology Complex
127486, Moscow, Beskudnikovsky bulvar str., 59A*

This article assesses the role of hypertension in the progression of diabetic retinopathy and possible rational therapeutic approaches, as well as features of the influence of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors being to reduce endothelial dysfunction. Review of the current literature confirms the importance and desirability of developing an effective method of drug correction and prevention of progression of diabetic retinopathy in hypertensive patients through the use of ACE inhibitors.

Key words: diabetes mellitus, diabetic retinopathy, hypertension, ACE inhibitors, pathophysiology.

*Hodjaev N.S. – doctor of medical sciences, professor, head of the centre for scientific and clinical work
Kuntysheva K.E. – postgraduate student, email: ksenia-ek@yandex.ru*

ИЗМЕНЕНИЕ МАКУЛЯРНОЙ ФУНКЦИИ ПАРНОГО ГЛАЗА У БОЛЬНЫХ С РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКОЙ СЕТЧАТКИ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИМИ ВИТРЕОХОРИОРЕТИНАЛЬНЫМИ ДИСТРОФИЯМИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ

**Владимир Владимирович НЕРОЕВ, Ирина Владимировна ЦАПЕНКО,
Галина Юрьевна ЗАХАРОВА, Юлия Петровна КОНДРАТЬЕВА,
Марина Владимировна ЗУЕВА**

*ФГБУ Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России
105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19*

Исследовалась топография функциональной активности макулярной области сетчатки 34 парных глаз с периферическими витреохориоретинальными дистрофиями (ПВХРД) у больных с регматогенной отслойкой сетчатки и у больных с ПВХРД на обоих глазах до лазерной коагуляции (ЛК) и через 3, 6 и 12 месяцев после нее. Данные мультифокальной ЭРГ (мф-ЭРГ) свидетельствуют о снижении функциональной активности центральной сетчатки при ПВХРД. В глазах с прогрессированием ПВХРД показано более выраженное угнетение-mf-ЭРГ до и после ЛК, чем на глазах без прогрессирования ПВХРД, особенно в зоне фовеа, перифовеа и средней периферии. По результатам mf-ЭРГ, ЛК на периферии сетчатки ассоциируется в большей степени с угнетением функциональной активности колбочковых фоторецепторов, чем биполярных клеток.

Ключевые слова: ПВХРД, мультифокальная электроретинография, оптическая когерентная томография, лазерная коагуляция сетчатки.

Регматогенная отслойка сетчатки (РОС) – одно из наиболее тяжелых заболеваний органа зрения, приводящее к слепоте и слабовидению в работоспособном возрасте [4, 8, 10]. Основной причиной ее развития являются периферические витреохориоретинальные дистрофии (ПВХРД), среди которых наиболее опасны три вида, представляющие факторы риска возникновения РОС: решетчатая дистрофия, изолированные разрывы сетчатки и ретиношизис. В связи с этим раннее выявление признаков прогрессирования ПВХРД и своевременное проведение необходимого профилактического лазерного лечения может предотвратить развитие РОС. Однако, учитывая, что поражение сетчатки любой локализации, включая периферические отделы, может вызывать нарушение функции соседней ткани, прилегающей к месту поражения [13], а также тот факт, что при осложненной миопии развиваются изменения в макулярной области сетчатки и повышается чувствительность нейронов к любому внешнему воз-

действию, проведение лазерной коагуляции (ЛК) на периферии сетчатки может привести к развитию непрямого повреждения макулы [11], что диктует необходимость более широкого исследования макулярной функции сетчатки у больных с РОС и ПВХРД.

Известно, что в парном глазу у больных с РОС опасные виды ПВХРД встречаются значительно чаще, чем у пациентов без РОС. Поэтому изучение характера и динамики ретинальных изменений на парном глазу у больных с ПВХРД, сочетанной с РОС, и больных с ПВХРД без РОС представляет собой актуальную задачу ретинологии.

Объективным методом оценки функционального состояния сетчатки являются электроретинографические исследования. Характер изменений различных видов электроретинограммы (ЭРГ) позволяет судить о выраженности и распространенности патологического процесса в периферических и центральных отделах сетчатки

Нероев В.В. – д.м.н., проф., руководитель отдела патологии сетчатки, директор

Цапенко И.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической физиологии зрения им. С.В. Кравкова

Захарова Г.Ю. – к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела патологии сетчатки

Кондратьева Ю.П. – аспирант отдела патологии сетчатки, e-mail oftal-julia@yandex.ru

Зуева М.В. – д.б.н., проф., руководитель лаборатории клинической физиологии зрения им. С.В. Кравкова

[1, 3, 6]. С помощью мультифокальной ЭРГ (мф-ЭРГ) оценивают топографию нарушений биоэлектрической активности колбочковой системы в центральной зоне сетчатки (25–30° от фовеа). В глазах, оперированных по поводу РОС, мф-ЭРГ регистрировали для избирательной оценки функциональных нарушений в отслоенной сетчатке при близком прилегании отслойки к макулярной области [2, 9, 12].

Цель работы – исследовать характер изменений функциональной активности макулярной области сетчатки парного глаза у больных с РОС и ПВХРД с помощью мф-ЭРГ до и после проведения лазерной коагуляции сетчатки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 34 пациента (34 глаза) с ПВХРД на парном глазу у больных с РОС и с ПВХРД на обоих глазах в возрасте от 20 до 67 лет (в среднем 36,7 года), в том числе 27 женщин и 7 мужчин. У всех пациентов выявлена миопическая рефракция: слабой степени – 6, средней степени – 6, высокой степени – 22 человека, острота зрения парного глаза с коррекцией составляла около 1,0. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Всем пациентам проводили стандартные офтальмологические исследования, включающие визометрию, тонометрию, биомикроскопию и офтальмоскопию, оптическую когерентную томографию (ОКТ) сетчатки. Электроретинографические исследования выполняли на диагностической системе «RETImap» (Roland Consult, Германия). Определяли топографию изменений ретиальной функции методом мф-ЭРГ у больных с ПВХРД и динамику функциональной активности сетчатки через 3, 6, 12 месяцев после ЛК.

Исследования проводили в соответствии с рекомендациями международного общества клинической электрофизиологии зрения (ISCEV) [5]. Использовали стандартный протокол с 61 гексагональными стимулами. Регистрацию ФОК (кernels первого порядка) мф-ЭРГ выполняли после 10 минут адаптации к комнатному освещению. Расстояние от монитора до роговицы составляло 29 см, усредненный угловой размер паттерна – 30°. Размеры стимула составили: центральный гексагон (кольцо 1) с радиусом 2,3°; кольца 2–5 имеют усредненные внутренние и наружные радиусы 2,3–6,9°, 6,9–14,3°, 14,3–20,8° и 20,8–29,9°, эксцентричнее точки фиксации. Это примерно соответствует следующим анатомическим обла-

стям сетчатки: центральный гексагон (1 кольцо) – фовеа, кольцо 2 – парафовеа; кольцо 3 – перифовеа и кольца 4–5 соответствуют области средней периферии. Рассчитывали средние значения и стандартное отклонение амплитуды негативного компонента N1, плотности (нормализованной по стимулируемой площади амплитуды) и пиковой латентности положительного компонента P1 ФОК мф-ЭРГ по кольцам стимулируемого паттерна.

ОКТ сетчатки выполняли на приборе Stratus OCT 3000 (Zeiss, Германия). Использовались протоколы сканирования макулярной области Fast Macular Thickness Map и Line. Сканирование проводили по шести лучам длиной 6 мм, проходящим через центр макулы и началом в 0, 30, 60, 90, 120, 150 градусах с последующим автоматическим анализом результатов по программе макулярного картирования. ОКТ выполняли на обоих глазах до лечения и через 1 месяц после лечения. ЛК выполняли на фотокоагуляторе Pascal DC-00849 (Optimedica, США) по общепринятой методике: диаметр коагулята 200 мкм, время экспозиции 0,1–0,2 с, мощность 200–300 мВт [7].

Все пациенты (34 глаза) были разделены на две группы: в первую вошли 14 парных глаз с ПВХРД у больных с РОС, вторую составили пациенты с ПВХРД без РОС (20 глаз); контролем служили 20 здоровых лиц в возрасте от 21 до 55 лет с клинической рефракцией не более –1,0 дптр. При осмотре глазного дна пациентов отмечено, что изолированно один вид ПВХРД встречался редко. В основном обнаружены смешанные формы дистрофий, т.е. определялось наличие двух или трех видов ПВХРД в одном глазу, включая обязательно один из опасных видов ПВХРД (сочетание решетчатой дистрофии с изолированными разрывами сетчатки; ретиношизис, патологическая гиперпигментация и классическая решетчатая дистрофия, патологическая гиперпигментация и классический вид решетчатой дистрофии, клапанные разрывы сетчатки с дистрофиями по типу «след улитки» и т. д.).

По видам ПВХРД в парном глазу у больных 1-й группы изменения распределялись следующим образом: решетчатая дистрофия в трех, разрывы в двух, смешанная форма в девяти глазах. Распространенность патологического процесса была следующей: ПВХРД выявлены в одном квадранте в одном глазу, в двух квадрантах – в четырех глазах, в трех квадрантах – в двух глазах, в четырех квадрантах – в семи глазах. Больные 2-й группы распределялись следующим образом: по видам ПВХРД – решетчатая дистрофия в восьми глазах и смешанная форма в 12, по квадрантам ПВХРД – по восьми глазам в двух и трех квадрантах и четыре глаза в четырех квадрантах.

При динамическом наблюдении после проведения ЛК периферии сетчатки в 1-й группе у одной пациентки на парном глазу выявлено прогрессирование ПВХРД в виде появления новых зон дистрофии, во 2-й группе – у пяти пациентов в виде появления новых зон дистрофии, истончений и разрывов в имеющейся зоне дистрофии, формирования новых разрывов сетчатки. Острота зрения глаз с ПВХРД на протяжении всего периода наблюдения не менялась.

При проведении статистического анализа для выявления различий между группами применяли точный критерий Фишера, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе оценивали наличие или отсутствие отслойки нейроэпителия в макуле, структурные изменения нейроэпителия, состояние витреоретинального интерфейса в обеих группах до и после ЛК. В исследование были включены только пациенты с опасными видами ПВХРД на парных глазах, с отсутствием томографических признаков эпимакулярной мембраны, резидуальной отслойки нейросенсорной сетчатки в макулярной области. Томографически у всех пациентов патологических изменений структуры сетчатки и отслойки нейроэпителия в центральной области до и после ЛК не выявлено.

При анализе мф-ЭРГ по кольцам установлены следующие закономерности изменения ретинальной функции при ПВХРД на парных глазах у больных с РОС и при ПВХРД у больных без РОС.

На парных глазах у больных с РОС до лечения наблюдалось статистически значимое ($p < 0,05$) снижение плотности положительного компонента P1 мф-ЭРГ в центральном гексагоне (зона фовеа) в среднем до 87 % от величины в группе контроля, принятой за 100 %. Плотность P1 в кольцах 2–4 не отличалась от значений в контрольной группе, в 5-м кольце отмечено лишь небольшое уменьшение, в среднем на 10 %. Через 3 мес. после лечения (операция на глазах с РОС и ЛК на периферии сетчатки парного глаза) показано угнетение P1 во всех кольцах мультифокального ответа сетчатки по сравнению с исходными данными, более выраженное для зоны фовеа (в среднем до 57 % от нормы, $p < 0,01$). На сроках наблюдения 6 и 12 мес. после ЛК плотность P1-компонента снижалась от зоны перифовеа и средней периферии (кольца R3–R5) в среднем до 54, 65 и 57 % от нормы соответственно.

Амплитуда N1 мф-ЭРГ уменьшалась более значительно, чем компонент P1; максимальное

угнетение отмечалось в 3–5 кольцах, в которых ее величина в среднем составляла 35, 41 и 43 % от значений здоровых лиц соответственно, в фовеа и парафовеальной зоне амплитуда N1 в среднем равнялась 57 и 54 % от нормы. Учитывая природу генерации мф-ЭРГ, большее снижение волны N1, чем P1-компонента на глазах с ПВХРД, свидетельствует о более выраженном угнетении функциональной активности колбочек, чем колбочковых биполярных клеток сетчатки при данном заболевании.

Во 2-й группе больных (без РОС) с прогрессированием ПВХРД до ЛК установлено угнетение P1-компонента во всех пяти кольцах, наиболее выраженное в фовеа (до 69 % нормы) и в кольцах 3–5 (до 66, 69 и 54 % от значений контрольной группы соответственно, $p < 0,01$). Также отмечено умеренное удлинение пиковой латентности P1 в зоне фовеа и парафовеа.

На сроках наблюдения 6 и 12 мес. после ЛК у них выявлена отрицательная динамика показателей мф-ЭРГ по всем пяти кольцам, более выраженная в фовеа и на средней периферии сетчатки, значения P1-компонента через 1 год составляли 48, 51, 46, 48 и 38 % от нормы в 1–5 кольцах соответственно. Удлинение латентности P1 (до 136 %) в большей степени было характерным для 1, 2 и 5 колец стимулируемого поля. Таким образом, ЛК на периферии сетчатки приводит к развитию функциональных нарушений на уровне внутреннего синаптического и внутреннего ядерного слоев сетчатки в макулярной области и на средней периферии сетчатки. Кроме того, в глазах с прогрессированием ПВХРД отмечалось существенное угнетение амплитуды N1 мф-ЭРГ: в кольце 1 до 47 % и в кольцах 2–5 – в среднем до 20 % от значений здоровых лиц ($p < 0,01$). После ЛК установлено удлинение латентности N1 через 6 мес. в кольцах 3, 4 и 5 мф-ЭРГ ответа, а через 1 год – во всех кольцах стимулируемого поля зрения.

У больных 2-й группы на глазах без прогрессирования ПВХРД до лечения плотность P1-компонента была снижена в кольцах 1–3 стимулируемого поля в среднем до 74 % и в пятом кольце – до 65 % от нормы. Через 6 мес. после ЛК отмечалось некоторое восстановление показателей мф-ЭРГ во всех кольцах, за исключением центрального гексагона. Через год плотность P1 уменьшалась в области фовеа до 61 %, в области перифовеа и средней периферии – до 59 и 52 % от нормы соответственно. Пиковая латентность P1 в данной группе больных до лечения не отличалась от нормальных значений. Через 6 и 12 мес. после ЛК отмечено удлинение пиковой латентности по-

ложительного компонента мф-ЭРГ в среднем на 32 % от нормы во всех исследуемых кольцах. Угнетение негативной волны N1 мф-ЭРГ на глазах с ПВХРД без прогрессирования также было более выраженным, чем угнетение P1-компонента. Амплитуда N1 в кольцах 1 и 2 составляла 54 %, в кольцах 3, 4 и 5 – 38 % от нормы. Пиковая латентность отрицательного компонента не отличалась от значений контрольной группы. При динамическом наблюдении через 3 мес. после ЛК установлено удлинение латентности волны N1 от всех колец мультифокального ответа, кроме центрального гексагона (на 24–35 % в зависимости от стимулируемой области сетчатки).

Таким образом, угнетение P1 и N1-компонентов мф-ЭРГ во всех кольцах стимулируемой центральной сетчатки, включая зону фовеа, свидетельствует о дисфункции макулярной области у больных с ПВХРД. Прогрессирование ПВХРД ассоциируется с нарастающим снижением плотности и удлинением латентности P1 и N1 в зоне фовеа, перифовеа и средней периферии (кольца 3–5). Известно, что при миопии высокой степени и увеличении переднезадней оси глаза развиваются изменения сетчатки, приводящие к снижению функции колбочек в макулярной зоне и возрастанию чувствительности различных нейронов сетчатки к любому внешнему воздействию, например ЛК. Это отражается на амплитуде и латентности мф-ЭРГ. Угнетение амплитуды мф-ЭРГ в макулярной области может свидетельствовать о риске прогрессирования патологических изменений в сетчатке после ЛК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью мультифокальной электроретинографии показано снижение функциональной активности макулярной области сетчатки при ПВХРД. Характер изменений свидетельствует об относительно более выраженном изменении функции колбочковых рецепторов, чем колбочковых биполярных клеток. В глазах с прогрессированием ПВХРД угнетение функции центральной сетчатки до и после ЛК является более выраженным, чем на глазах без прогрессирования ПВХРД, особенно в зоне фовеа, перифовеа и средней периферии. По результатам мф-ЭРГ, ЛК на периферии сетчатки ассоциируется с угнетением функциональной активности нейронов колбочковой системы сетчатки, в большей степени в фовеа и на средней периферии. Больным с ПВХРД с це-

лью ранней диагностики и мониторинга макулярных изменений после лазерной коагуляции сетчатки целесообразно проведение мф-ЭРГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захарова Г.Ю., Нероев В.В., Зуева М.В., Цепенко И.В. Динамика зрительных функций при хирургическом лечении регматогенной отслойки сетчатки с пролиферативной витреоретинопатией // Клиническая физиология зрения : очерки, обзоры, ориг. ст.: [Посвящ. памяти А.И. Богословского]. М.: МБН, 2002. 70–92.
2. Нероев В.В., Гринченко М.И., Зуева М.В. и др. Мультифокальная ЭРГ при регматогенной отслойке сетчатки в миопическом глазу // Вестн. офтальмологии. 2009. (1). 21–27.
3. Шамшинова А.М., Волков В.В. Функциональные методы исследования в офтальмологии. М.: Медицина, 1998. 419 с.
4. Algvare P.V., Jahnberg P., Textorius O. The Swedish Retinal Detachment Register, I: a database for epidemiological and clinical studies // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1999. 237. 37–44.
5. Hood D.C., Bach M., Brigell M. et al. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition) // Doc. Ophthalmol. 2012. 124. 1–13.
6. Karpe G. The basis of clinical electroretinography // Acta Ophthalmol. 1945. 24. 1–118.
7. L'Esperance F.A.Jr. Ophthalmic Lasers (3rd edn). St. Louis: CVMosby Co., 1989. 291–301.
8. Mitry D., Charteris D.G., Yorston D. et al. The epidemiology and socioeconomic associations of retinal detachment in Scotland: a two-year prospective population-based study // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (10). 4963–4968.
9. Moschos M., Malias J., Ladas J. et al. Multifocal ERG in retinal detachment surgery // Eur. J. Ophthalmol. 2001. 11. (3). 296–300.
10. Polkinghorne P.J., Craig J.P. Northern New Zealand Rhegmatogenous Retinal Detachment Study: epidemiology and risk factors // Clin. Experiment. Ophthalmol. 2004. 32. (2). 159–163.
11. Robertson Norton. Long-term follow up of treated retinal breaks // Amer. J. Ophthalm., 1973. 75. (3). 395–404.
12. Wu D., Gao R., Zhang G., Wu L. Comparison of pre- and postoperational multifocal electroretinograms of retinal detachment // Chin. Med. J. 2002. 115. (10). 1560–1563.
13. Zueva M., Neroyev V., Grinchenko M. et al. Morphofunctional correlates in rhegmatogenous detachment of the retina // Acta Ophthalmol. 2008. 86. (Suppl.). 243.

THE ALTERATIONS OF FELLOW EYE'S MACULAR FUNCTION IN THE PATIENTS WITH RHEGMATOGENOUS RETINAL DETACHMENT AND PERIPHERAL VITREORETINAL DYSTROPHIES AFTER LASER COAGULATION OF THE RETINA

**Vladimir Vladimirovich NEROEV, Irina Vladimirovna TSAPENKO,
Galina Yurievna ZAKHAROVA, Yulia Petrovna KONDRATYEVA,
Marina Vladimirovna ZUEVA**

*Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases
105062, Moscow, Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19*

The topography of functional activity of the macula zone before and 3, 6 and 12 months after laser coagulation of the retina of 34 fellow eyes with peripheral vitreoretinal dystrophies (PVRD) was studied in patients with rhegmatogenous retinal detachment and in patients with PVRD on both eyes. The multifocal ERG (mfERG) data showed a decrease in functional activity of the central retina when PVRD. In the eyes with PVRD progression stronger reduction of mfERG was found before and after the laser coagulation than in the eyes without PVRD progression, especially in the fovea, perifoveal and middle periphery zones. According to the results of mfERG, the laser coagulation at the retinal periphery associated largely with the reduction in functional activity of cone photoreceptors than cone bipolar cells.

Key words: peripheral vitreoretinal dystrophy; multifocal electroretinography; optical coherent tomography; laser coagulation of the retina.

Neroev V.V. – doctor of medical sciences, professor, head of retinal pathology department, director

Tsapenko I.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory of clinical physiology of vision n.a. S.V. Kravkov

Zakharova G.Yu. – candidate of medical sciences, leading researcher of the retinal pathology department

Kondratyeva Yu.P. – postgraduate student of the retinal pathology department, e-mail oftal-julia@yandex.ru

Zueva M.V. – doctor of biological sciences, professor, head of laboratory of clinical physiology of vision n.a. S.V. Kravkov

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ВТОРИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ХИРУРГИИ ВРОЖДЕННЫХ КАТАРАКТ

Алексей Владимирович ВАСИЛЬЕВ¹, Виктор Васильевич ЕГОРОВ^{1,2},
Галина Петровна СМОЛЯКОВА^{1,2}

¹ Хабаровский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
680033, г. Хабаровск, ул. Тихоокеанская, 211

² КГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения»
Минздрава Хабаровского края
680012, г. Хабаровск, ул. Краснодарская, 9-а

Проведен детальный анализ клинических проявлений вторичного иммунодефицитного состояния у детей грудного возраста с врожденной катарактой с целью разработки системы прогнозирования и профилактики послеоперационных экссудативно-пролиферативных осложнений после хирургии врожденных катаракт с имплантацией интраокулярной линзы. Установлено, что для возникновения ранних экссудативных реакций прогностическое значение имеет уровень инфекционной нагрузки, превышающий 0,56 усл. ед. Пролиферативные изменения в задней капсуле хрусталика без клинических признаков воспаления развиваются при уровне инфекционной нагрузки 0,21–0,55 усл. ед. в сочетании с коэффициентом отношения лимфоцитов и гранулоцитов менее 1,0.

Ключевые слова: дети, грудной возраст, врожденная катаракта, вторичные иммунодефицитные состояния, клинический инфекционный синдром, послеоперационные осложнения, прогнозирование.

В комплексе мероприятий по медико-социальной реабилитации детей с врожденной катарактой (ВК) основным звеном остается хирургическое лечение. Современные технологии удаления хрусталика и высококачественный дизайн акриловых интраокулярных линз (ИОЛ) существенно снизили травматичность операции и минимизировали риск интраоперационных осложнений. Это позволило проводить операции по поводу ВК с имплантацией ИОЛ у детей первого года жизни и создавать более оптимальные условия для развития зрительных функций пораженного глаза [7, 9].

В то же время высокие оптические и функциональные результаты операции у детей с ВК зависят не только от сроков и методики проведения вмешательства, но и от частоты и характера послеоперационных осложнений. Наиболее часто после удаления ВК, особенно у детей грудного возраста, наблюдаются экссудативно-пролиферативные реакции [2, 3, 5, 6, 10], одним из исхо-

дов которых является формирование вторичной катаракты, преимущественно по типу фиброза задней капсулы хрусталика (ЗКХ). Несмотря на важность проблемы, критерии прогнозирования и методы профилактики данных осложнений до настоящего времени остаются менее всего разработанными, что побуждает к поиску и изучению причин, формирующих преморбидный фон для их возникновения.

Известно, что течение и интенсивность местного воспалительного ответа на различные травмирующие оперативные вмешательства контролируют про- и противовоспалительные иммуномедиаторы – цитокины [5, 12, 15]. Существует мнение, что одной из основных причин нарушений в локальных механизмах иммунного реагирования на хирургическую травму является синдром вторичного иммунодефицитного состояния (ВИДС) [1, 4, 8, 11, 13, 14].

Сам факт высокой частоты ВИДС у детей грудного возраста определил необходимость де-

Васильев А.В. – врач-офтальмолог высшей квалификационной категории, зав. отделением хирургии катаракты

Егоров В.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой офтальмологии, директор

Смолякова Г.П. – д.м.н., проф., врач-офтальмолог клинико-экспертного отдела, проф. кафедры офтальмологии

тального анализа его клинических проявлений с целью разработки доступной и объективной системы прогнозирования и профилактики послеоперационных осложнений при хирургии ВК с имплантацией ИОЛ.

Цель исследования – изучить клинические проявления ВИДС и на основе их сопоставления с течением послеоперационного периода выделить критерии для прогнозирования экссудативно-пролиферативных осложнений после хирургии ВК с имплантацией ИОЛ у детей грудного возраста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом клинического обследования явились 52 ребенка с ВК в возрасте на момент операции от 4 до 11 месяцев (в среднем $7,1 \pm 2,9$ мес.). Среди них 37 детей оперировано по поводу односторонней ВК, 15 детей – двусторонней ВК. У 22 детей (27 глаз) диагностирована атипичная ВК, у 17 детей (19 глаз) – полная, у 13 (26 глаз) – зонулярная ВК.

В процессе обследования детей на дооперационном этапе для выявления хронического ВИДС большое внимание уделяли клинико-анамнестическому методу. Он включал в себя изучение соматической и акушерской патологии матери и ребенка в период настоящей беременности с выявлением факторов, способных неблагоприятно влиять на развитие иммунной системы ребенка и усугублять его иммунологическую некомпетентность. Поскольку формирующаяся у ребенка первого года жизни иммунная система чрезвычайно чувствительна к различным повреждающим воздействиям, прежде всего – инфекционным, подробно изучали медицинские карты постнатального развития ребенка. При этом анализировали частоту, структуру и тяжесть течения острых и хронических инфекций. По результатам клинико-анамнестических исследований и заключений специалистов (педиатра, стоматолога, отоларинголога, невролога) рассчитывали интегральный показатель – клинический индекс инфекционной нагрузки (КИИН), позволяющий осуществлять долабораторную диагностику ВИДС. КИИН определяли перед операцией отдельно для каждого ребенка как соотношение всех случаев острой инфекции, ее осложнений и очагов хронической инфекции, включая внутриутробные инфекции, к календарному возрасту ребенка (месяцы) на момент операции и выражали в условных единицах.

В соответствии со стандартом СтИА (2001) проводили первичный лабораторный скрининг клинико-иммунологического статуса. По клиническому анализу крови рассчитывали коэффици-

ент отношения (КО) между абсолютным числом лимфоцитов (ЛФ) и гранулоцитов (Г) – КО ЛФ/Г, дополняющий процедуру диагностики инфекционного синдрома ВИДС. В норме у здоровых детей грудного возраста при отсутствии инфекционного анамнеза КО ЛФ/Г варьирует от 1,0 до 1,5 усл. ед. [5].

Стандартное офтальмологическое обследование включало: биомикроскопию, офтальмоскопию, тонометрию, авторефрактометрию, биометрию, ультразвуковое В-сканирование. Все исследования выполнялись до операции и затем в динамике послеоперационного наблюдения на протяжении одного года.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинико-анамнестический анализ перинатальных факторов риска ВИДС у детей грудного возраста с ВК на дооперационном этапе показал, что отягощенный акушерский анамнез, являющийся исходным фоном для возникновения ВИДС, имел место у всех 52 детей с ВК. Среди причинно-значимой акушерской патологии матери, формирующей у обследуемых нами $84,6 \pm 3,6$ % детей предпосылки для постнатального ВИДС, преобладали инфекционно-воспалительные заболевания (урогенитальные, респираторные, герпес-вирусные) в период настоящей беременности. В структуре акушерской патологии матери, оказывающей неблагоприятное влияние на постнатальный период развития иммунной системы ребенка, значительное место занимал также гестоз ($61,5 \pm 2,7$ %).

Следствием плацентарной недостаточности у $57,7 \pm 2,5$ % обследованных детей с ВК являлась хроническая внутриутробная гипоксия, у $23,1 \pm 1,4$ % – задержка внутриутробного развития, которые тормозят развитие иммунной системы ребенка. Детальный анализ клинико-анамнестических постнатальных факторов, составляющих симптомокомплекс ВИДС, показал, что доминирующими клиническими его признаками у детей с ВК являлись различные инфекционно-воспалительные заболевания (49 чел. – $94,2 \pm 3,3$ %) и только в единичных случаях (3 чел. – $5,8 \pm 0,5$ %) имели место кожные проявления аллергии (крапивница, экссудативный диатез), возникшие при переводе данных детей на искусственное вскармли-

Таблица 1

Клинико-anamnestический анализ постнатальных инфекций в клиническом симптомокомплексе ВИДС среди детей с ВК, n = 49 (100 %)

Нозологическая форма	n	%, M ± m
Острые инфекции		
Респираторные (ОРВИ)	37	75,5 ± 3,1
Кишечные (энтероколиты)	7	14,3 ± 1,1
Урогенитальные (вуловиты)	5	10,2 ± 0,9
Хронические инфекции		
Бессимптомное вирусоносительство	17	32,6 ± 2,1
ЛОР-органов (отиты, евстахииты, этмоидиты)	13	28,8 ± 0,9
Дыхательные системы (бронхиты, риниты)	9	18,3 ± 1,1
Пищеварительные системы (дисбактериоз)	9	18,3 ± 1,1
Мочевыделительные системы (пиелонефрит)	1	2,0 ± 0,3

ливание. Частота и структура постнатальных инфекций у детей грудного возраста с ВК представлены в табл. 1.

Ретроспективный анализ собранной клинико-anamnestической информации показал, что за возрастной период от момента рождения до операции у обследованных нами детей с ВК в инфекционном спектре ВИДС самый большой удельный вес составили острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) – 75,5 ± 3,1 %, период реконвалесценции при которых, даже на фоне клинического благополучия, может затягиваться на срок от 1 до 3 месяцев. К числу клинических особенностей ОРВИ, выявленных нами у детей с ВК, следует отнести: наличие в 32,4 ± 2,0 % вторичных случаев заболевания, в 23,0 ± 1,4 % – удлинение острой фазы болезни, в 48,9 ± 2,0 % – возникновение различных бактериальных осложнений, возбудителями которых, по мнению педиатров, являются условно-патогенные микроорганизмы. В структуре возникших осложнений имели место воспалительные заболевания ЛОР-органов – 23,4 ± 1,5 %, дыхательной и мочевыделительной систем – 20,5 ± 1,5 %.

В спектре постнатальных острых инфекций довольно большую группу составили энтероколиты различной этиологии (14,3 ± 1,1 % детей), завершившиеся в 10,2 ± 0,7 % случаев развитием дисбактериоза кишечника.

В структуре хронических инфекций у детей с ВК ведущее место занимают врожденное бессимптомное вирусоносительство (32,6 ± 2,1 %), присутствие которого педиатры и инфекционисты объясняют тем, что иммунная система ребенка из-за ограничения ее резервов неспособна элиминировать вирусы. К внутриутробному инфицированию данных детей привели герпес-вирусные инфекции матери в период беременности, подтвержденные методом иммуноферментно-

го анализа. Довольно высокий удельный вес (18,3 ± 2,1 %) в структуре хронических инфекций у детей с ВК, по результатам проведенных исследований, составлял дисбактериоз кишечника, который развивался в 10,2 ± 1,0 % случаев вследствие острых кишечных инфекций и в 8,1 ± 0,5 % – из-за применяемой антибактериальной терапии и перехода на раннее искусственное вскармливание. В настоящее время в педиатрической практике накоплено достаточно фактов, указывающих на существенную роль дисбактериоза кишечника в формировании клинических проявлений ВИДС [4]. В процессе анамnestических исследований детей с ВК довольно часто регистрировались очаги хронической инфекции в ЛОР-органах (28,8 ± 0,9 %) и дыхательной системе (18,3 ± 1,1 %), значительно реже – в мочевыделительных органах (2,0 ± 0,3 %).

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод о том, что у детей с ВК первого года жизни, особенно перинатально отягощенных, доминирующим клиническим симптомокомплексом ВИДС является инфекционный синдром (94,2 ± 3,3 %). Однако только от констатации фактов, свидетельствующих о наличии у детей с ВК инфекционного ВИДС, трудно ожидать достоверности в прогнозировании послеоперационных осложнений при удалении ВК. В связи с этим в качестве основного прогностического критерия клинического инфекционного ВИДС у детей грудного возраста с ВК на дооперационном этапе нами был взят его исходный интегральный показатель – КИИН. В своей совокупности КИИН характеризует степень выраженности инфекционной отягощенности как ведущего фактора, истощающего резервы иммунной системы и индуцирующего иммунологическую дезадаптацию [13]. Дополнительно по данным гемограммы рассчитывали перед операцией КО ЛФ/Г, который

дает представление о системной направленности нарушений иммунного статуса ребенка.

Анализ полученного клинического материала показал большой разброс абсолютных значений КИИН (0,11–0,83 усл. ед.) и КО ЛФ/Г (0,51–1,46) в общей совокупности обследованных детей с ВК перед операцией.

С целью выяснения статистически значимых закономерностей в прогнозировании послеоперационных осложнений при аспирации ВК с имплантацией ИОЛ у детей грудного возраста, ассоциированных с инфекционным ВИДС, вся совокупность обследованных детей (49 чел.) ретроспективно была разделена на 3 группы. Группу 1 составили 7 детей (14,3 ± 0,5 %) с ареактивным течением послеоперационного периода и без изменений ЗКХ на протяжении всего времени наблюдения в течение 1 года. В группу 2 включили 7 детей (14,3 ± 0,5 %) с ранней экссудативной реакцией (первые 3–5 дней после операции) и развитием в последующие 2–3 месяца фиброза ЗКХ с утратой оптических функций глаза. В группу 3 вошли 35 детей (71,4 ± 2,1 %) с ранним пролиферативными изменениями ЗКХ при отсутствии клинических признаков воспаления. Появление пролиферативного процесса на ЗКХ диагностировано в первые 3–4 недели после операции с формированием тотального фиброза ЗКХ в течение 4–5 месяцев.

Ретроспективный анализ зависимости течения послеоперационного периода от показателей КИИН и КО ЛФ/Г в периферическом кровотоке у детей с ВК перед операцией представлен в табл. 2. По данным ретроспективного анализа зарегистрирована зависимость клинических особенностей течения послеоперационного периода при хирургии ВК с имплантацией ИОЛ от исходных значений КИИН и КО ЛФ/Г. Так, среди 7 детей группы 1 с неосложненным течением послеоперационного периода у пятерых наблюдался низкий уровень КИИН (0,11–0,2 усл. ед.) и только

у 2 человек инфекционный фон соответствовал умеренному уровню (0,22–0,24 усл. ед.). У всех детей первой группы КО ЛФ/Г превышал 1,0 и соответствовал показателю возрастной нормы. Исходя из полученных данных, можно предположить, что для неосложненного течения послеоперационного периода у детей грудного возраста при хирургии ВК характерны в исходном состоянии сохранные резервы иммунной системы, способные предотвращать реактивацию инфекции и развитие неадекватной ответной реакции на хирургическую травму.

Во 2-й группе при наличии экссудативного синдрома после удаления ВК с имплантацией ИОЛ, КИИН превышал в 3,6 раза, а КО ЛФ/Г был в 2,1 раза ниже аналогичных показателей детей группы 1 с неосложненным течением послеоперационного периода.

У детей группы 3, характеризующихся развитием после операции пролиферативных изменений в ЗКХ без клинических признаков воспаления, выявлено умеренное повышение КИИН, при этом КО ЛФ/Г оказался в 1,9 раза ниже, чем у детей с неосложненным течением послеоперационного периода ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что исходные КИИН и КО ЛФ/Г при хирургии ВК с имплантацией ИОЛ у детей грудного возраста позволяют прогнозировать 3 варианта течения послеоперационного периода: неосложненное, осложненное экссудативным синдромом и осложненное пролиферативным синдромом со склонностью к развитию фиброза в ЗКХ. Критериями неосложненного течения послеоперационного периода являются низкий уровень КИИН (менее 0,2 усл. ед.) либо умеренно повышенный уровень КИИН в совокупности с КО ЛФ/Г, соответствующим варианту возрастной нормы (1,0–1,5). Основу прогноза развития экссудативных реакций после хирургии ВК составляет высокий уровень КИИН

Таблица 2

Анализ сопоставления показателей клинического индекса инфекционной нагрузки (КИИН) и коэффициента отношения лимфоцитов и гранулоцитов (КО ЛФ/Г) у детей с ВК грудного возраста на дооперационном этапе, $M \pm m$ (min–max)

Показатель	Группы обследованных по характеру послеоперационного течения		
	1-я группа, $n = 7$	2-я группа, $n = 7$	3-я группа, $n = 35$
КИИН, усл. ед.	0,18 ± 0,09 (0,11–0,24)	0,66 ± 0,07* (0,54–0,83)	0,37 ± 0,12* (0,22–0,55)
КО ЛФ/Г	1,28 ± 0,15 (1,10–1,46)	0,61 ± 0,08* (0,51–0,72)	0,65 ± 0,05* (0,53–0,77)

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя детей группы 1 статистически значимо при $p < 0,05$.

(0,56 усл. ед. и выше). Развитие послеоперационных пролиферативных реакций в ЗКХ без экссудативного компонента наиболее вероятно при сочетании умеренно повышенного уровня КИИН (0,21–0,55 усл. ед.) в сочетании со снижением КО ЛФ/Г (менее 1,0).

ВЫВОДЫ

1. Изучение акушерского анамнеза и результатов общесоматического обследования детей грудного возраста с ВК показало наличие у большинства из них (94,2 ± 3,3 %) клинических признаков ВИДС в варианте инфекционного синдрома.

2. Установлена возможность прогнозирования послеоперационных осложнений при хирургии ВК у детей грудного возраста на основе выделенных клинико-иммунологических критериев. Прогностическое значение для возникновения экссудативных реакций имеет фоновый показатель КИИН, превышающий 0,56 усл. ед., для развития пролиферативных изменений в задней капсуле хрусталика без клинического воспаления значения индекса равны 0,21–0,55 усл. ед. в сочетании с пониженным (менее 1,0) коэффициентом отношения лимфоцитов и гранулоцитов.

3. Полученные результаты позволяют на дооперационном этапе определить контингент детей грудного возраста с ВК, нуждающихся в проведении после хирургии ВК иммунокоррекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев А.В. Иммунофармакологические возможности оптимизации оптических результатов ранней хирургии врожденной катаракты с первичной имплантацией ИОЛ // Катарактальная и рефракционная хирургия. 2011. (3). 20–24.

2. Васильев А.В., Егоров В.В., Смолякова Г.П. Характеристика экссудативно-пролиферативных осложнений после аспирации врожденной катаракты с имплантацией ИОЛ у детей различного возраста периода раннего детства // Офтальмохирургия. 2010. (6). 18–21.

3. Васильев А.В., Егоров В.В., Смолякова Г.П. и др. Анализ частоты и структуры осложнений в от-

даленном периоде после аспирации врожденной катаракты с имплантацией ИОЛ у детей различного возраста периода раннего детства // Рос. педиатрич. офтальмол. 2011. (1). 34–38.

4. Вельтищев Ю.Е. Проблемы экзопатологии детского возраста – иммунологические аспекты // Педиатрия. 1991. (12). 74–80.

5. Егоров В.В., Васильев А.В., Смолякова Г.П. Клинико-иммунологический анализ развития вторичной катаракты у детей раннего возраста после аспирации врожденной катаракты с имплантацией ИОЛ // Рос. педиатрич. офтальмол. 2009. (4). 29–33.

6. Жеков А.К., Боброва Н.Ф., Дембовецкая А.Н. Осложнения имплантационной хирургии врожденных катаракт у детей раннего возраста (1–24 мес.) // Офтальмохирургия. 2010. (6). 22–25.

7. Зрительные функции и их коррекция у детей / Ред. Э.С. Аветисов, Т.П. Кащенко, А.М. Шамшинова. М., 2005. 872 с.

8. Карсонова М.И., Пинегин Б.В., Хаитов Р.М. Иммунопрофилактика и иммунотерапия хирургических инфекций // Практикующий врач. 1998. (12). 5–8.

9. Круглова Т.Б. Итоги и перспективы лечения детей с врожденными катарактами // Детская офтальмология. Итоги и перспективы: матер. науч.-практ. конф. М., 2006. 45–49.

10. Круглова Т.Б., Кононов Л.Б. Проллиферативные реакции после экстракции врожденных катаракт с имплантацией ИОЛ у детей первого года жизни // Рос. педиатрич. офтальмол. 2009. (3). 8–9.

11. Лебедев К.А., Понякин И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). М.; Н. Новгород, 2009. 443 с.

12. Нероев В.В., Хватова А.В., Судовская Т.В. Клинико-иммунологические исследования при односторонних врожденных катарактах у детей // Офтальмоиммунология. Итоги и перспективы: матер. науч.-практ. конф. М., 2007. 207–213.

13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение // Иммунология. 1999. (1). 14–17.

14. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия // Лечащий врач. 1999. (2–3). 63–69.

15. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // Иммунология. 1997. (5). 7–14.

PREDICTIVE VALUE OF RESEARCH OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE SECONDARY IMMUNODEFICIENCY STATE IN CHILDREN OF LACTATION PERIOD AT SURGERY OF CONGENITAL CATARACTS

Aleksey Vladimirovich VASILYEV¹, Viktor Vasilyevich EGOROV^{1,2}, Galina Petrovna SMOLYAKOVA^{1,2}

¹ *The Khabarovsk Branch of the State Institution Eye Microsurgery Complex named after S.N. Fyodorov, Khabarovsk*

680033, Khabarovsk, Tikhookeanskaya str., 211

² *Postgraduate Institute for Public Health Workers, Khabarovsk*

680000, Khabarovsk, Krasnodarskaya str., 9

The detailed analysis of clinical manifestations of the secondary immunodeficient state in children of lactation period with congenital cataract was carried out for the purpose of development of the system of forecasting and prevention of postoperative exudative-proliferative complications after surgery of congenital cataracts with implantation of intraocular lenses. It was established that for appearance of early exudative reactions predictive value has the level of infectious charge exceeding 0.56 conventional units. Proliferative changes in a lens posterior capsule without clinical signs of an inflammation develop at the level of infectious charge of 0.21–0.55 conventional units in combination with coefficient of the relation of lymphocytes and granulocytes less than 1.0.

Key words: children, lactation period, congenital cataract, secondary immunodeficiency states, clinical infectious syndrome, postoperative complications, predictive criteria.

Vasilyev A.V. – ophthalmologist of high qualification category, head of the cataract surgery department

Egorov V.V. – doctor of medical sciences, professor, director, head of the ophthalmology chair

Smolyakova G.P. – doctor of medical sciences, professor, ophthalmologist of the clinical-expert department

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ПЕРЕДНЕЗАДНЕЙ ОСИ ГЛАЗА У ДЕТЕЙ С ГИПЕРМЕТРОПИЧЕСКОЙ АНИЗОМЕТРОПИЕЙ ПОСЛЕ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО *IN SITU* КЕРАТОМИЛЕЗА: 1 ГОД НАБЛЮДЕНИЙ

Ирина Леонидовна КУЛИКОВА, Николай Петрович ПАШТАЕВ

Чебоксарский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
428000, г. Чебоксары, пр. Тракторостроителей, 10

В работе исследовано изменение переднезадней оси глаза у детей с 6 до 11 лет с гиперметропической анизометропией и исходной гиперметропией средней и высокой степени на худшем глазу в течение 1 года после фемтосекундного лазерного *in situ* кератомилеза, выполненного для устранения анизометропии и лечения амблиопии при отсутствии эффекта от традиционных консервативных методов лечения. Показано, что, несмотря на особенности структуры и механических свойств склеры глаз детей и подростков с гиперметропией средней и высокой степени, оказывающих тормозящее влияние на процесс эмметропизации, на фоне изменения рефракции после операции с ростом ребенка происходит увеличение переднезадней оси глаза. Отмечена несколько большая динамика изменения переднезадней оси глаза после операции у детей в возрасте от 9 до 11 лет в сравнении с младшей группой. Показано, что изменения переднезадней оси глаза не повлияли на высокие функциональные результаты по остроте зрения и восстановлению бинокулярных функций, полученные у детей после фемтосекундного лазерного *in situ* кератомилеза.

Ключевые слова: гиперметропия, переднезадняя ось глаза, дети, лазерный *in situ* кератомилез.

Коррекция рефракционных нарушений высокой степени у детей, особенно при наличии амблиопии и анизометропии, по-прежнему является актуальной проблемой. Рефракционные операции выполняются у детей с 80-х годов прошлого века, на современном этапе совершенствуются технологии и достигается более высокий уровень безопасности операций [1, 3, 4, 7, 8]. Своевременное устранение анизометропии при отсутствии эффекта от традиционных консервативных методик позволяет успешно лечить амблиопию и восстанавливать бинокулярные функции в сочетании с аппаратными методиками в процессе послеоперационной реабилитации. В то же время у многих детских офтальмологов возникают сомнения по поводу отдаленных результатов кераторефракционных операций у детей, так как с ростом ребенка возможен рост переднезадней оси глаза (ПЗО).

Рядом авторов приводятся данные, что у детей с гиперметропией до 1,0 дптр продолжается рост глаза в интервале с 9,5 ($22,88 \pm 0,86$ мм) до

12–14 лет ($23,46 \pm 0,54$ мм), после чего его размер не меняется [3]. Известно, что при слабой гиперметропии и слабой миопии биофизические свойства склеры не имеют принципиальных различий, что позволяет предполагать участие функциональных (расстройства аккомодации, дефокус, абберрации), а не морфологических (строение склеры) механизмов в переходе слабой гиперметропии в миопию. Гиперметропия средней и высокой степени определена как отдельная конституциональная форма, и особенности структуры и механических свойств склеры глаз детей и подростков с гиперметропией средней и высокой степени могут оказывать тормозящее влияние на процесс эмметропизации [4].

Цель исследования – ретроспективный анализ данных переднезадней оси глаза у детей с гиперметропической анизометропией до фемтосекундного лазерного *in situ* кератомилеза (ФемтоЛАЗИК) и через 1 год после него, а также влияние этих изменений на рефракционные и функциональные результаты операции.

Куликова И.Л. – д.м.н., зам. директора по лечебной работе, e-mail: koulikovail@mail.ru

Паштаев Н.П. – д.м.н., проф., директор, зав. курсом, зав. кафедрой офтальмологии и отоларингологии, e-mail: prmntk@chtt.ru

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование вошел 41 пациент (41 глаз) в возрасте от 5 до 11 лет, прооперированные на один худший глаз после безуспешного консервативного лечения анизометропической амблиопии традиционными методами с целью уменьшения степени анизометропии и создания условий для лечения амблиопии и восстановления бинокулярных функций. Все исследования выполнены с информированного согласия родителей испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

В зависимости от возраста и рефракционных данных прооперированного глаза пациенты были разделены на 2 группы и 4 подгруппы. В группе детей младшего возраста (от 5 до 8 лет, в среднем $6,5 \pm 0,99$ года) выделяли 2 подгруппы: с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +4 до +5 дптр ($n = 12$, ПЗО $22,18 \pm 0,88$ мм) и с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +6 до +9,75 дптр ($n = 11$, ПЗО $20,91 \pm 0,84$ мм). Аналогичным образом подразделяли старшую группу (дети от 9 до 11 лет, в среднем $10,1 \pm 0,44$ года), величина ПЗО в подгруппах составила соответственно $22,22 \pm 0,19$ мм ($n = 8$) и $21,00 \pm 0,32$ мм ($n = 10$).

До операции применяли стандартные методы обследования. Величина сферического эквивалента рефракции (СЭ) худшего глаза до ФемтоЛАЗИК составила $+2,44 \pm 1,36$ дптр (от +0,75 до +4,12 дптр), парного глаза – $+0,91 \pm 0,55$ дптр (от +0,25 до +1,8 дптр), анизометропия по СЭ у всех пациентов – $1,49 \pm 1,31$ дптр, некорригированная острота зрения (НОЗ) – $0,14 \pm 0,13$ (по LogMAR $1,02 \pm 0,43$), корригированная острота зрения (КОЗ) – $0,21 \pm 0,14$ (по LogMAR $0,7 \pm 0,28$), монокулярный характер зрения – 85 % случаев ($n = 35$), одновременный – 15 % случаев ($n = 6$). Период наблюдения составил 1 год.

ФемтоЛАЗИК проводили с помощью фемтосекундного лазера 60 кГц (IntraLaseFS, США) и эксимерного лазера «Микроскан» 300 Гц (Троицк). Рефракционный эффект рассчитывали по данным рефракции в условиях циклоплегии и с учетом величины анизометропии и рефракции парного глаза. Роговичный клапан диаметром 9,2–9,5 мм формировали на глубину 110 мкм, фотоблязию выполняли с диаметром центральной оптической зоны 6,5 мм и общей зоной аблиации 8,5–8,7 мм.

Осложнений во время операции не было. Применяли стандартные схемы медикаментозного лечения (антибиотики в течение 7 дней, стероидные противовоспалительные средства по

схеме на 3 недели и корнепротекторы в течение 1–2 месяцев). Консервативное лечение (электро-стимуляция, лазерстимуляция, фотостимуляция, комплекс функционального биоуправления «Реамед-А» (Санкт-Петербург), медикаментозное лечение) проводили через 3 и 6 месяцев после операции. Пациентов обследовали до лечения, в день выписки и через 3, 6, 12 месяцев после лечения.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднееквадратическое отклонение (SD), и представляли в виде $M \pm SD$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Послеоперационный период протекал без осложнений. Все включенные в исследование пациенты получали консервативное лечение после операции в течение всего срока наблюдения.

Через год после ФемтоЛАЗИК величина ПЗО в младшей группе детей с гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +4 до +5 дптр увеличилась по сравнению с исходной на $0,07 \pm 0,09$ мм ($p > 0,05$) (рис. 1, а), у детей с гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +6 до +9,75 дптр – на $0,11 \pm 0,16$ мм ($p > 0,05$) (рис. 1, б). При этом как до, так и после операции величина ПЗО у детей первой подгруппы была статистически значимо выше, чем у детей второй подгруппы ($p = 0,0021$ и $p = 0,0033$ соответственно). В старшей группе соответствующие изменения через год после ФемтоЛАЗИК составили $+22,46 \pm 0,26$ мм ($p = 0,0448$) (рис. 2, а) и $+0,32 \pm 0,25$ мм ($p = 0,0094$) (рис. 2, б), величина ПЗО до и после операции у детей первой подгруппы была статистически значимо выше, чем у детей второй подгруппы ($p = 0,0000$ в обоих случаях).

Исходная величина СЭ у всех детей составляла $+2,41 \pm 1,36$ дптр, через год после ФемтоЛАЗИК уменьшившись до $+1,60 \pm 0,87$ дптр (от +1 до +3,25 дптр) ($p = 0,0112$). Если до операции анизометропия по СЭ у всех пациентов равнялась $1,49 \pm 1,31$ дптр, то через 1 год после операции – $0,97 \pm 0,86$ дптр. НОЗ увеличилась на $0,25 \pm 0,19$ (по Log MAR на $0,61 \pm 0,21$), КОЗ – на $0,4 \pm 0,1$ (по Log MAR на $0,4 \pm 0,22$), все пациенты приобрели от 1 до 5 строк КОЗ. До операции большинство пациентов (85 %) имело монокулярный характер зрения, через год после операции и консервативного лечения бинокулярные функции получены у 34 пациентов из 41 (в 83 % случаев).

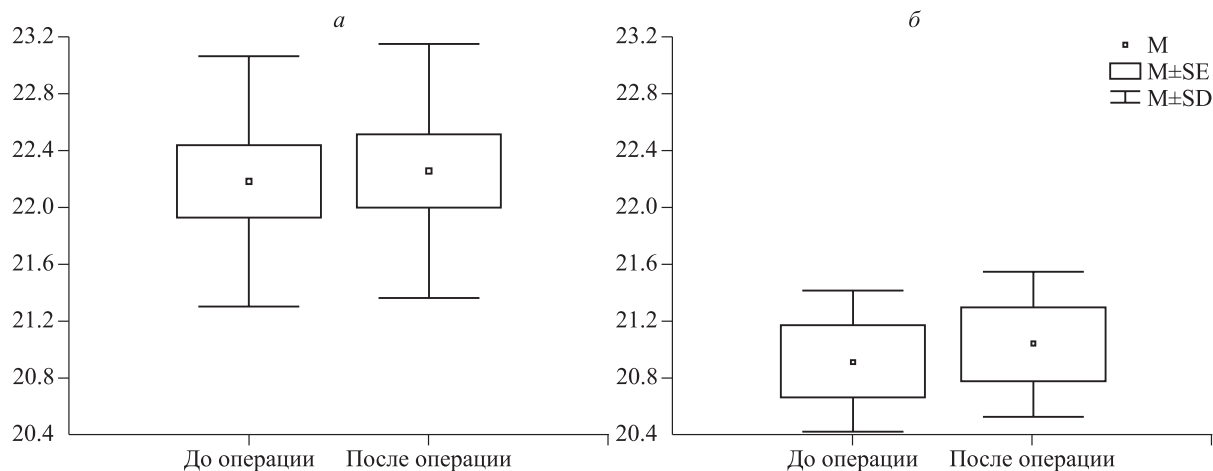


Рис. 1. Величина ПЗО (мм) до ФемтоЛАЗИК и через 1 год после нее у детей младшей группы в возрасте от 5 до 8 лет: а – с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +4 до +5 дптр ($n = 12$), б – с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +6 до +9,75 дптр ($n = 11$)

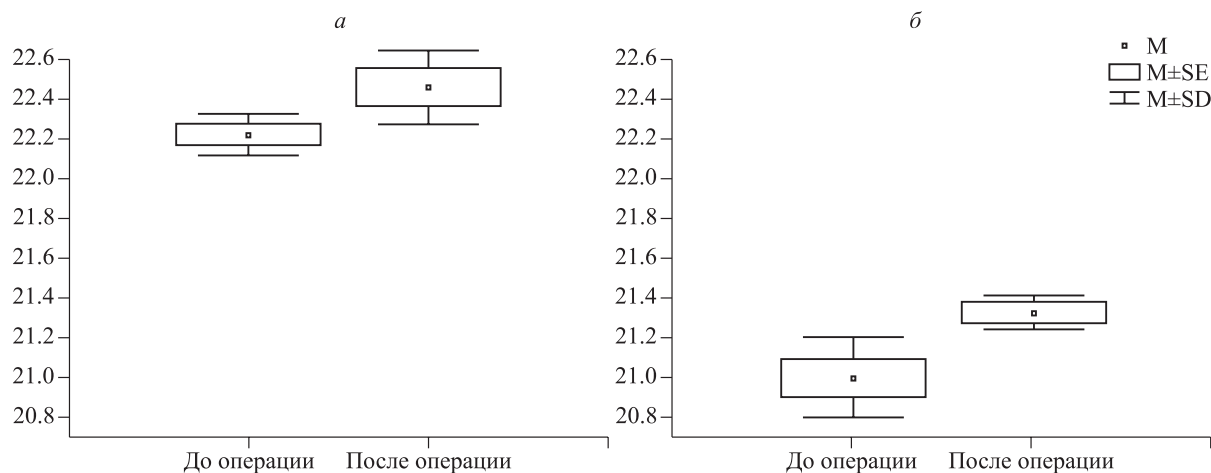


Рис. 2. Величина ПЗО (мм) до ФемтоЛАЗИК и через 1 год после нее у детей старшей группы в возрасте от 9 до 11 лет: а – с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +4 до +5 дптр ($n = 8$), б – с исходной гиперметропией по сферическому компоненту рефракции от +6 до +9,75 дптр ($n = 10$)

Таким образом, через 1 год после ФемтоЛАЗИК прослеживается большая динамика изменения ПЗО у детей в возрасте от 9 до 11 лет. Однако данные изменения ПЗО никак не повлияли на высокие функциональные результаты, полученные после операции. На фоне некоторого роста ПЗО у всех обследуемых пациентов через 1 год после операции определялась гиперметропическая рефракция.

Изменение ПЗО глаза у детей с разными видами рефракции по мере увеличения возраста по данным ряда авторов сильно варьирует. Имеется мнение о взаимосвязи переднезаднего размера глаза с антропометрическими показателями [5]. Хотелось бы отметить, что среднестатистичес-

кая норма ПЗО глаза с эмметропией составляет 23,5–24 мм, однако, по данным разных авторов, разброс значений длины эмметропического глаза достаточно велик, и не всегда длина глаза 21 мм обязательно свидетельствует о гиперметропии, так как это может компенсироваться суммарной преломляющей способностью роговицы и хрусталика [2, 9]. Несмотря на особенности структуры и механических свойств склеры глаз у детей с гиперметропией средней и высокой степени и тормозящее влияние данных факторов на процесс эмметропизации [6], рефракционная операция, изменяя рефракцию глаза, по мере роста ребенка способствует изменению ПЗО на глазах с исходной гиперметропией высокой и средней

степени. Необходимо учитывать это при планировании эффекта операции.

На наш взгляд, имеет большое значение получение таких высоких функциональных показателей после операции, которых не смогли достичь, используя традиционные методы. Некоторый рост ПЗО глаза не сказался отрицательно на полученных функциональных данных. Не исключено, что временная миопическая рефракция, которая имела место в первые месяцы после операции, способствовала более успешному консервативному лечению амблиопии. Общеизвестно, что регрессия рефракционного результата после гиперметропического ФемтоЛАЗИК может продолжаться и через 1 год после операции. Возможно, этот регресс будет компенсироваться в какой-то мере изменением ПЗО по мере роста ребенка.

ВЫВОДЫ

1. Через 1 год после ФемтоЛАЗИК у детей в возрасте от 5 до 8 лет величина переднезадней оси не изменилась. У детей в возрасте от 9 до 11 лет переднезадняя ось увеличилась в среднем на $0,23 \pm 0,26$ мм при исходной гиперметропии средней степени и на $0,32 \pm 0,25$ мм при исходной гиперметропии высокой степени.

2. Среднее значение СЭ рефракции до операции составило $+2,44 \pm 1,36$ дптр, через год после ФемтоЛАЗИК – $+1,60 \pm 0,86$ дптр, анизометропия по СЭ рефракции уменьшилась на $+0,97 \pm 0,86$ дптр.

3. Изменения переднезадней оси в обеих группах не снизило высокие функциональные результаты, полученные после ФемтоЛАЗИК: НОЗ увеличилась в среднем на $0,25 \pm 0,19$ (по Log MAR на $0,61 \pm 0,21$), КОЗ – в среднем на $0,4 \pm 0,1$ (по Log MAR на $0,4 \pm 0,22$); бинокулярные функции получены у 34 пациентов из 41 (в 83 % случаев).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов С.Э. Современные подходы к коррекции рефракционных нарушений // Вестн. офтальмологии. 2006. (1). 3–8.

2. Аветисов Э.С., Ковалевский Е.И., Хватова А.В. Руководство по детской офтальмологии. М.: Медицина, 1987. 497 с.

3. Ивашина А.И., Ермилова И.А., Агафонова В.В. и др. Современный подход к коррекции гиперметропии у детей и подростков // Федоровские чтения – 2002: сб. науч. ст. М., 2002. 126–128.

4. Пахтаев Н.П., Куликова И.Л. ЛАЗИК у детей с анизометропией на установке «Микроскан-2000» // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии – 2005: сб. науч. ст. М., 2005. 413–420.

5. Сердюченко В.И. Драгомирецкая Е.И., Ностопырева Е.И. Размер глаза по данным ультразвуковой биометрии у школьников и его взаимосвязь с антропометрическими показателями // Детская офтальмология: итоги и перспективы. М., 2006. 228–229.

6. Тарутта Е.П. Иомдина Е.И., Кварацхелия Н.Г., Кружкова Г.В. Сравнительное изучение анатомо-топографических особенностей глаз с гиперметропией и миопией у детей // Съезд офтальмологов России, 9-й. М., 2010. 106–108.

7. Alio J.L., Artola A., Claramonte P. et al. Photorefractive keratectomy for pediatric myopic anisometropia // J. Cataract Refract. Surg. 1998. (24). 327–S 330.

8. Aistle W.F., Rahmat J., Ingram A.D., Huang P.T. Laser-assisted subepithelial keratectomy for anisometropic amblyopia in children: outcomes at 1 year // J. Cataract Refract. Surg. 2007. (33). 2028–2034.

9. Larsen J.S. Axial length of the emmetropic eye and its relation to the head size // Acta Ophthalmol. (Copenh). 1979. 57. (1). 76–83.

ANALYSIS OF CHANGES OF EYE ANTERIOR-POSTERIOR AXIS IN CHILDREN WITH HYPEROPIC ANISOMETROPIA AFTER FEMTOSECOND LASER *IN SITU* KERATOMILEUSIS: 1 YEAR OF CHECK-UP

Irina Leonidovna KULIKOVA, Nikolay Petrovich PASHTAEV

*Fyodorov Eye Surgery Institution in Cheboksary, Russia
428028, Cheboksary, Traktorostroitelei prt., 10*

Changes of eye axial length in children aged 6–11 with hyperopic anisometropia and medium and high hyperopia at worse eye were investigated during 1 year after femtosecond laser in situ keratomileusis rendered to remove anisometropia and to treat amblyopia when traditional conservative methods of treatment are not effective. In spite of special structure and mechanic properties of eye sclera of children and teen-agers with medium and high hyperopia which hamper emmetropization, eye axial length increases as refraction changes after surgery as a child grows. Great dynamics of axial length change after surgery in children aged 9–11 is revealed. Changes of anterior-posterior axis didn't influence on high functional results in visual acuity and binocular functions rehabilitation in children after femtosecond laser in situ keratomileusis.

Key words: hyperopia, eye axial length change in children after surgery.

Kulikova I.L. – doctor of medical sciences, deputy director for treatment work, e-mail: koulikovail@mail.ru
Pashtaev N.P. – doctor of medical sciences, professor, director, course manager, head of ophthalmology and otolaryngology chair, e-mail: prmntk@chtts.ru

ОСОБЕННОСТИ СУТОЧНОГО ПРОФИЛЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ЛИЦ РАЗЛИЧНЫХ ПРОФЕССИЙ

Маргарита Александровна ЕРМАКОВА¹, Любомир Иванович АФТАНАС²,
Любовь Анатольевна ШПАГИНА¹

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

² ФГБУ НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

Цель исследования – изучение вариантов суточного профиля артериального давления у больных артериальной гипертензией в зависимости от характера воздействия производственной среды (психоэмоционального перенапряжения либо физических факторов труда). Материал и методы. Обследовано 317 человек в возрасте от 30 до 50 лет. Критерием включения в исследуемые группы являлось наличие артериальной гипертензии I–II степени повышения артериального давления и II–III степени риска по критериям Европейского общества кардиологов (2011). Критерии исключения: возраст старше 50 лет, острые сосудистые осложнения в анамнезе, патология щитовидной железы, ожирение, сахарный диабет. Проведены суточное мониторирование артериального давления с использованием мониторов системы АВРМ-02 (Венгрия), оценка психологического статуса по методикам Тейлор и Спилбергера – Ханина. Результаты и обсуждение. Выявлено, что у больных артериальной гипертензией физиологический вариант суточного профиля артериального давления «dippers» регистрировался в 1,2–1,3 раза чаще у рабочих, подвергающихся воздействию физических факторов труда, и служащих. Патологические профили артериального давления «non-dippers» и «over-dippers» наблюдались в 1,3–1,8 раза чаще у лиц с артериальной гипертензией и психоэмоциональным перенапряжением, особенно военнослужащих. По данным многофакторного корреляционного анализа выявлена взаимосвязь уровней личностной тревожности, систолического и диастолического артериального давления в ночные часы.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, профиль артериального давления, личностная тревожность.

С целью более точной оценки роли нагрузки артериального давления (АД) на состояние сердечно-сосудистой системы предпочтительными являются методы обследования, адаптированные с условиями, максимально приближенными к естественным [5–7]. Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) позволяет получить более полную информацию об уровне АД в течение суток, исключить феномен «белого халата», оценить дисфункцию вегетативной нервной системы (вариабельность АД, степень его снижения в ночные часы), получить дополнительные показатели АД, позволяющие прогнозировать течение заболевания, оценить эффективность проводимой терапии и т.д. [10]. Методика суточного мониторирования АД (СМАД) с помощью носимых аппаратов дает представление о роли циркадного ритма и суточной вариабель-

ности АД в развитии поражения органов-мишеней и, следовательно, прогностической степени риска дальнейшего течения заболевания [6, 8]. СМАД находит все более широкое применение в терапевтической практике не только для оценки характера суточного профиля АД у пациентов, имеющих артериальную гипертензию (АГ), но и выбора тактики лечения, оценки его эффективности и безопасности [9]. Кроме того, СМАД является ценным методом для убедительной диагностики стресс-индуцированной АГ [1, 2, 4]. В последние годы все большее внимание уделяется неблагоприятным факторам – психоэмоциональному напряжению, шуму, вибрации, СВЧ-излучениям и многим другим, которые могут играть роль реализующего звена в развитии АГ; вышеперечисленные данные определили цель представленной работы.

Ермакова М.А. – к.м.н., докторант кафедры госпитальной терапии и медицинской реабилитации, e-mail: 7270306@mail.ru

Афтанас Л.И. – д.м.н., проф., академик РАН, директор, e-mail: liaftanas@physiol.ru

Шпагина Л.А. – д.м.н., проф., главный врач, зав. кафедрой госпитальной терапии и медицинской реабилитации, e-mail: mkb-2@yandex.ru

Цель исследования – изучение вариантов суточного профиля артериального давления у больных артериальной гипертензией в зависимости от характера воздействия производственной среды (психоэмоционального перенапряжения либо физических факторов труда).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе Центра профессиональной патологии города Новосибирска. Обследовано 317 человек в возрасте от 30 до 50 лет. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.). Из общего числа обследуемых 72,3 % (215 человек) составили мужчины и 27,7 % (человек) – женщины. Критерием включения в исследуемые группы являлось наличие АГ I–II степени повышения АД и II–III степени риска по критериям Европейского общества кардиологов (2011). Критерии исключения: возраст старше 50 лет, острые сосудистые осложнения в анамнезе, патология щитовидной железы, ожирение, сахарный диабет.

Всем обследуемым проведена сравнительная и суммарная оценка воздействия психоэмоционального напряжения и физических факторов производственной среды (шума и вибрации). По данному принципу для исследования выделены 3 группы. Первую группу составили лица, чья профессиональная деятельность связана с психоэмоциональным перенапряжением, всего 110 человек (средний возраст $42,4 \pm 1,3$ года). В эту категорию вошли 52 медицинских работника отделений экстренной медицинской помощи и 58 военнослужащих с экстремальными условиями службы. Вторая группа сформирована из 96 рабочих, подвергающихся воздействию физических факторов труда, таких как шум и вибрация (средний возраст $42,9 \pm 1,6$ года). В третью группу включены 57 служащих с АГ и оптимальными условиями труда (средний возраст $43,2 \pm 1,5$ года). Контрольную группу составили 54 здоровых донора (средний возраст $40,4 \pm 1,5$ года). Стаж работы колебался от 5 до 25 лет.

СМАД проведено с использованием мониторов системы АВРМ-02 (Венгрия). Оценивали следующие показатели: суточные индексы времени АД, среднее систолическое (САД) и среднее диастолическое АД (ДАД), вариабельность САД, вариабельность ДАД, индекс времени САД и индекс времени ДАД, суточный индекс САД и ДАД, величина и скорость утреннего подъема САД и ДАД. Оценку психологического статуса выполняли с помощью специализированных психоди-

агностических методик – шкалы проявления тревожности Тейлор, теста Спилберга – Ханина.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднее квадратичное отклонение (SD), и представляли в виде $M \pm SD$. Средние значения сравнивали с помощью двустороннего критерия Стьюдента. Корреляционный анализ был проведен с помощью определения коэффициента корреляции по Пирсону. Для анализа взаимосвязи двух и более признаков применяли корреляционный анализ по Спирмену. С целью установления вида зависимости нескольких признаков использовали метод множественного регрессионного анализа, с расчетом коэффициента множественной детерминации (R^2), строили уравнения регрессии следующего вида: $Y = a + b_1X_1 + \dots + b_nX_n$, где X_1, X_n – прогностические признаки, Y – объясняемый признак, a – константа, b – коэффициенты регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые группы достоверно не различались по полу, возрасту и длительности АГ (в первой группе – $7,3 \pm 1,7$ года, во второй – $7,5 \pm 1,6$ года, в третьей – $7,8 \pm 1,2$ года, в четвертой – $7,6 \pm 1,3$ года). Всем обследуемым проведена сравнительная и суммарная оценка воздействия психоэмоционального напряжения и физических факторов производственной среды (шума и вибрации). По данному принципу для исследования выделены 3 группы.

Во всех группах изучены показатели гемодинамики (САД, ДАД и среднее гемодинамическое АД), результаты представлены в табл. 1. Исследование уровней АД у лиц различных профессий, страдающих АГ, в зависимости от стажа работы позволило выявить следующие особенности. Так, во всех группах больных АГ со стажем работы 5–10 лет имело место изменение параметров центральной гемодинамики. Показано повышение САД, ДАД и среднего гемодинамического АД, особенно у военнослужащих с экстремальными условиями службы. При этом данные величины достоверно отличались от значений групп сравнения и контрольных. Так, при АГ в группах с психоэмоциональным перенапряжением показано статистически достоверное повышение САД, ДАД и среднего гемодинамического давления ($p < 0,05$). Кроме того, при анализе показателей САД, ДАД и среднего гемодинамического давления не получено достоверных различий в группе больных АГ с воздействием физических факторов в сравнении с оптимальными условиями труда (см. табл. 1).

Таблица 1

Величина АД при суточном мониторинге в зависимости от уровня тревоги у больных АГ различных профессий

Показатель	Медицинские работники отделений экстренной медицинской помощи, <i>n</i> = 52	Военнослужащие с экстремальными условиями службы, <i>n</i> = 58	Рабочие с воздействием физических факторов труда, <i>n</i> = 96	Служащие с оптимальными условиями труда, <i>n</i> = 57
Стаж работы 5–10 лет				
САД, мм рт. ст.	146,6 ± 4,3**	147,4 ± 3,6	143,4 ± 1,8	142,8 ± 1,7
ДАД, мм рт. ст.	89,2 ± 4,8**	91,5 ± 3,9	85,9 ± 2,5	84,9 ± 2,1
Среднее гемодинамическое АД, мм рт. ст.	105,9 ± 5,2**	106,7 ± 4,6	102,8 ± 2,6	99,6 ± 3,8
Личностная тревожность, баллы	12,5 ± 1,6***	**9,1 ± 1,9	8,9 ± 1,5	10,2 ± 1,7
Ситуативная тревожность, баллы	38,5 ± 2,7***	46,3 ± 3,2	32,8 ± 3,4	36,7 ± 2,4
Стаж работы 11–20 лет				
САД, мм рт. ст.	155,4 ± 6,2**	156,8 ± 5,9	148,6 ± 5,6	147,8 ± 2,3
ДАД, мм рт. ст.	102,1 ± 2,6**	103,5 ± 3,5	96,7 ± 2,8	95,5 ± 1,8
Среднее гемодинамическое АД, мм рт. ст.	110,5 ± 4,7**	112,7 ± 5,3	107,3 ± 2,4	106,6 ± 3,2
Личностная тревожность, баллы	17,9 ± 2,1***	23,8 ± 2,5	15,6 ± 1,9	16,6 ± 1,2
Ситуативная тревожность, баллы	26,5 ± 2,5***	*,**19,7 ± 1,8	22,3 ± 1,2	22,9 ± 1,7

* Различия достоверны внутри группы с психоэмоциональным перенапряжением.

** Различия достоверны между исследуемыми группами и группами сравнения (*p* < 0,05).

При анализе показателей центральной гемодинамики у пациентов различных профессиональных групп, страдающих АГ, со стажем 11–20 лет имел место рост (*p* < 0,05) САД, ДАД и среднего гемодинамического давления относительно лиц, чья профессиональная деятельность длилась 5–10 лет, особенно среди профессий, связанных с психоэмоциональным перенапряжением (см. табл. 1).

Учитывая взаимосвязь уровня АД и психологических особенностей личности [3], всем обследуемым было проведено исследование личностной и ситуативной тревожности в зависимости от стажа профессиональной деятельности. По результатам проведенной работы, несмотря на рост САД и ДАД, были выявлены более низкие показатели личностной тревожности, являющейся стабильным свойством личности, в среднем в 1,3 раза, у военнослужащих с экстремальными условиями службы и стажем 5–10 лет относительно медицинских работников отделений экстренной медицинской помощи. В сравнении с рабочими и служащими с оптимальными условиями труда статистически достоверных различий по показателям личностной тревожности получено не было (см. табл. 1). Кроме того, военнослужащие

имели более высокие уровни ситуативной тревожности по сравнению с медицинскими работниками (в 1,2 раза) и с рабочими, подвергающимися воздействию шума и вибрации (в 1,4 раза) (см. табл. 1).

Анализ данных обследуемых групп со стажем 11–20 лет выявил рост личностной и снижение ситуативной тревожности во всех исследуемых группах в среднем в 2 раза (см. табл. 1). У военнослужащих с экстремальными условиями службы были отмечены наивысшие показатели личностной тревожности – в 1,3 и 1,5 раза больше, чем у медицинских работников и рабочих и служащих соответственно. В данной группе имели место статистически достоверно (*p* < 0,05) более низкие значения ситуативной тревожности в сравнении с рабочими и служащими, а также с медицинскими работниками отделений экстренной медицинской помощи (в 1,3 раза) (см. табл. 1). При проведении многофакторного корреляционного анализа выявлена взаимосвязь уровней личностной тревожности, САД и ДАД в ночные часы (*R* = 0,52).

Изучение частоты вариантов АГ у больных различных профессий позволило выявить преобладание систолодиастолического варианта во всех исследуемых группах. При этом изолиро-

Таблица 2

Характеристика вариантов АГ и распределение повышенной вариабельности АД и скорости утреннего подъема САД у больных АГ различных профессиональных групп

Показатель	Медицинские работники отделений экстренной медицинской помощи (n = 52), %	Военнослужащие с экстремальными условиями службы (n = 58), %	Рабочие с воздействием физических факторов труда (n = 96), %	Служащие с оптимальными условиями труда (n = 57)
Изолированная систолическая	1,9 (1)	3,4 (2)	12,5 (12)	1,8 (1)
Систолюдиастолическая	75,0 (39)	74,1 (43)	79, (76)	80,7 (46)
Диастолическая	23,1 (12)	22,5 (13)	8,3 (8)	17,5 (10)
Повышенная вариабельность САД, мм рт. ст.	51,9 (27)	55,1 (32)	50,0 (48)	45,6 (26)
Повышенная вариабельность ДАД, мм рт. ст.	53,8 (28)	58,6 (34)	47,9 (46)	47,3 (27)
Повышенная скорость утреннего подъема САД, мм рт. ст./ч	55,7 (29)	60,3 (35)	53,1 (51)	49,1 (28)

Таблица 3

Характеристика вариантов СПАД у больных АГ различных профессиональных групп

Показатель	Медицинские работники отделений экстренной медицинской помощи (n = 52), %	Военнослужащие с экстремальными условиями службы (n = 58), %	Рабочие с воздействием физических факторов труда (n = 96), %	Служащие с оптимальными условиями труда (n = 57), %
Стаж работы 5–10 лет				
«dippers»	55,8 (29)	51,8 (30)	68,7 (66)	73,7 (42)
«non-dippers»	15,4 (8)	18,9 (11)	13,6 (13)	10,5 (6)
«over-dippers»	28,8 (15)	29,3 (17)	17,7 (17)	15,8 (9)
«night-pickers»	0	0	0	0
Стаж работы 11–20 лет				
«dippers»	46,2 (24)	44,8 (26)	63,5 (61)	68,4 (39)
«non-dippers»	36,5 (19)	37,9 (22)	27,1 (26)	24,6 (14)
«over-dippers»	11,5 (6)	12,1 (7)	9,4 (9)	7,0 (4)
«night-pickers»	5,8 (3)	5,2 (3)	0	0

ванная систолическая АГ встречалась в 3,6 раза чаще у рабочих, подвергающихся воздействию физических факторов труда, чем у больных с психоэмоциональными перегрузками и оптимальными условиями профессиональной деятельности (табл. 2). Среди профессий, связанных с психоэмоциональным перенапряжением, пациенты с диастолической АГ встречались в 2,7 раза чаще по сравнению с больными, работающими в условиях шума и вибрации (см. табл. 2).

При анализе результатов СМАД у больных АГ отмечалось увеличение вариабельности САД и ДАД во всех исследуемых группах, при этом у военнослужащих с экстремальными условиями службы повышенная вариабельность САД встречалась чаще, чем у рабочих (на 5,1 %) и у служа-

щих с оптимальными условиями труда (на 9,5 %) (см. табл. 2). В группе военнослужащих также отмечено преобладание повышенных значений вариабельности ДАД, в среднем на 10,7 % относительно больных с воздействием физических факторов труда и служащих и на 4,8 % – по сравнению с медицинскими работниками отделений экстренной медицинской помощи. Обращает на себя внимание достоверное различие в показателях повышенной вариабельности САД и ДАД в группах больных, чья профессиональная деятельность связана с психоэмоциональным перенапряжением ($p < 0,05$, см. табл. 2).

Повышенная скорость утреннего подъема САД определена у 60,3 % военнослужащих с экстремальными условиями службы, что на 4,5 %

выше показателей медицинских работников, 7,2 % – рабочих и 11,2 % – служащих с оптимальными условиями труда. Таким образом, у военнослужащих с АГ отмечались более высокие показатели вариабельности САД и ДАД, увеличение скорости утреннего подъема САД в сравнении с больными других профессиональных групп (см. табл. 2).

При анализе данных изучения суточного профиля АД (СПАД) в зависимости от стажа работы выявлены существенные различия в обследуемых группах, результаты представлены в табл. 3. Так, у больных АГ и стажем 5–10 лет физиологический вариант СПАД «dippers» регистрировался в 1,2–1,3 раза чаще у рабочих, подвергающихся воздействию физических факторов труда и служащих. Недостаточная степень ночного снижения АД («non-dippers») наблюдалась в 1,3–1,8 раза чаще у лиц с АГ и психоэмоциональным перенапряжением, особенно у военнослужащих (см. табл. 3). Отсутствие или недостаточное снижение АД в ночные часы может свидетельствовать о серьезных расстройствах деятельности центральной нервной системы и служить причиной сосудистых осложнений при АГ [2].

Избыточная степень ночного снижения АД («over-dippers») в среднем в 1,6–1,8 раза чаще встречалась у больных, чья профессиональная деятельность связана с психоэмоциональными нагрузками (см. табл. 3). По результатам анализа СПАД у всех обследуемых со стажем работы 11–20 лет показано снижение физиологических вариантов СПАД-dippers и нарастание частоты патологических типов: «non-dippers» и «night-pickers». Кроме того, имело место снижение частоты встречаемости варианта «over-dippers», особенно в группах медицинских работников и военнослужащих (см. табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для больных АГ, чья профессиональная деятельность связана с психоэмоциональным перенапряжением, характерны более высокие показатели САД, ДАД и среднего гемодинамического давления, а также частота повышенной вариабельности систолического и диастолического давления уже при стаже работы 5–10 лет.

У пациентов, страдающих АГ и подвергающихся воздействию физических факторов труда, таких как шум и вибрация, имеет место более высокая частота встречаемости изолированной систолической АГ. Для лиц с АГ профессий, связанных с психоэмоциональным перенапряжением,

характерна большая частота диастолической АГ по сравнению с больными, работающими в условиях шума и вибрации.

АГ во всех исследуемых группах характеризуется снижением физиологических вариантов СПАД – «dippers» и нарастанием частоты патологических типов: «non-dippers» и «night-pickers» с увеличением стажа работы. Для военнослужащих характерно увеличение частоты встречаемости варианта «over-dippers» при стаже работы 5–10 лет, снижение данного показателя и изменение свойств личности с тенденцией к повышению уровня личностной тревожности у больных, чья профессиональная деятельность составила 11–20 лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бартош Л.Ф., Канаева Т.В., Дорогова И.В., Майорова Н.Н. Психологический статус и суточный профиль артериального давления у беременных с системной гипертензией // Артериальная гипертензия. 2006. (4). 12–15.
2. Бартош Л.Ф., Дорогова И.В. Оценка суточного профиля артериального давления у беременных. Пенза, 2003. 125 с.
3. Гафаров В.В., Громова Е.А., Кабанов Ю.Н., Гагулин И.В. Личность и ее взаимодействие с социальной средой: непроторенная дорога. Новосибирск, 2008. 48 с.
4. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Хирманов В.Н. Артериальное давление в исследовательской и клинической практике. М., 2004. 384 с.
5. Adroguе H.E., Sinaiko A.R. Prevalence of hypertension in junior high school-aged children: effect of new recommendations in the 1996 Updated Task Force Report // Am. J. Hypertens. 2001. 14. (1). 112–114.
6. Back Giuliano Ide C., Caramelli B., Pellanda L. et al. I guidelines of prevention of atherosclerosis in childhood and adolescence // Arq. Bras. Cardiol. 2005. 85 (6). 11–38.
7. Carole L. Marcus. Sleep-disordered breathing in children // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001. 164. (1). 16–30.
8. Chiolero A., Cachat F., Burni M. et al. Prevalence of hypertension in schoolchildren based on repeated measurements and association with overweight // J. Hypertens. 2007. 25. (1). 209–217.
9. Flynn J.T. What's new in pediatric hypertension? // Curr. Hypertens. Rep. 2001. 15. (3). 103–110.
10. Vogt B.A. Hypertension in children and adolescents: definition, pathophysiology, risk factors, and long-term sequelae // Curr. Ther. Res. Clin. Exp. 2001. 62. (1). 283–289.

FEATURES OF DIURNAL PROFILE OF ARTERIAL PRESSURE AT HYPERTENSION IN PEOPLE OF DIFFERENT OCCUPATIONS

**Margarita Aleksandrovna ERMAKOVA¹, Lubomir Ivanovich AFTANAS²,
Lubov Anatolevna SHPAGINA¹**

¹ *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of the Russia
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21*

² *Institute of Physiology and Fundamental Medicine of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

Purpose of research. The study of variations of daily blood pressure profile in patients with arterial hypertension depending on the nature of the impact of the production environment (emotional or physical overstrain of labor). Materials and methods. 317 people aged from 30 to 50 years were examined. Inclusion criteria in the treatment group were: arterial hypertension of I–II degree of increase blood pressure and II–III degree of risk criteria EOC (2011). Exclusion criteria were: the age of 50, acute vascular complications in history, pathology of thyroid cancer, obesity, diabetes mellitus. Daily monitoring of arterial pressure with the use of monitors system IWRM-02 (Hungary), the assessment of psychological status on techniques Taylor, and Spilberger – Hanina were carried out. Results and discussion. It has been revealed that the diurnal profile of arterial pressure dippers in patients with arterial hypertension of physiological option was registered at 1.2–1.3 times more frequent then among workers exposed to physical factors of labor and among employees. Pathological profiles of blood pressure «non-dippers» and «over-dippers» occurred at 1.3–1.8 times more frequently in people with hypertension and under the emotional stress, especially in military personnel. The relationship between levels of personal anxiety, systolic and diastolic blood pressure at night was revealed according to multivariate correlation analysis.

Key words: arterial hypertension, blood pressure profile, personal anxiety.

Ermakova M.A. – candidate of medical sciences, doctoral candidate of the chair of hospital therapy and medical rehabilitation, e-mail: 7270306@mail.ru.

Aftanas L.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, director, e-mail: liaftanas@physiol.ru.

Shpagina L.A. – doctor of medical sciences, professor, chief doctor, head of the chair of hospital therapy and medical rehabilitation, e-mail: mkb-2@yandex.ru

ЛЕЧЕНИЕ АКТИВНЫХ СТАДИЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПАТТЕРНОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛАЗЕРКОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ

Александр Владимирович ТЕРЕЩЕНКО¹, Юрий Александрович БЕЛЫЙ¹,
Павел Львович ВОЛОДИН², Ирина Георгиевна ТРИФАНЕНКОВА¹,
Юлия Александровна СИДОРОВА¹

¹ Калужский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России

248007, г. Калуга, ул. им. Святослава Федорова, 5

² ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России

127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, 59 А

Цель исследования – разработать дифференцированный подход к лазерному лечению активных стадий ретинопатии недоношенных с применением паттерновой лазеркоагуляции сетчатки и оценить ее эффективность. Материал и методы. Исследование проведено на 1158 глазах 613 недоношенных новорожденных (срок гестации – 25–31 недель, масса тела при рождении – 670–1630 г). В основной группе проводили паттерновую лазерную коагуляцию сетчатки по технологии Паскаль, в контрольной – коагуляцию в режиме одиночного импульса. Результаты и обсуждение. Преимуществами паттерновой лазеркоагуляции в сравнении со стандартной являются значительное сокращение продолжительности вмешательства (не менее чем в 2 раза) и высокая дозированность воздействия.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, задняя агрессивная ретинопатия недоношенных, паттерновая лазерная коагуляция сетчатки, дифференцированный подход.

Одной из определяющих современных тенденций в лечении активной ретинопатии недоношенных (РН) с учетом пересмотренных показаний к проведению лазерной коагуляции сетчатки (ЛКС) ETROP является раннее выполнение лазерного лечения, в «допороговой» стадии заболевания [3, 6].

Основным принципом лазерного лечения активной РН считается соблюдение адекватности лазерного воздействия. В работах зарубежных авторов большое внимание уделяется оценке плотности нанесения коагулятов и влиянию данного фактора на эффективность лечения. Доказано, что так называемая «сливная» коагуляция более эффективна по сравнению с «рассеянной» методикой постановки коагулятов в лечении «пороговой» стадии РН [4, 7]. Вместе с тем нельзя не отметить, что следствием коагуляции с высокой плотностью является формирование грубых посткоагуляционных изменений в виде обширных полей хориоретинальной атрофии (проявление

гиперкоагуляции). Кроме того, тенденция к увеличению количества коагулятов и проведению «сливной» коагуляции влечет за собой большую продолжительность сеанса лазерного лечения, а следовательно, и длительности наркотозного пособия недоношенному ребенку.

В этом плане особый интерес представляет инновационная технология лазерной коагуляции (Паскаль), основанная на использовании полуавтоматизированного метода паттерновой генерации ультракоротких, унифицированных по энергетическим параметрам лазерных импульсов, которые наносятся в определенной последовательности по предварительно заданным шаблонам (паттернам) с высокой скоростью сканирования, более 50 импульсов в секунду [5, 8].

Цель – разработать дифференцированный подход к лазерному лечению активных стадий ретинопатии недоношенных с применением технологии паттерновой коагуляции сетчатки и оценить ее клиническую эффективность.

Терещенко А.В. – к.м.н., директор филиала, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Белый Ю.А. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Володин П.Л. – д.м.н., зав. отделом, e-mail: volodinpl@mntk.ru

Трифаненкова И.Г. – к.м.н., зав. отделением, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Сидорова Ю.А. – зав. отделением, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 1158 глазах 613 недоношенных новорожденных (срок гестации – 25–31 недель, масса тела при рождении – 670–1630 г, возраст – 5–8 недель) с различными стадиями РН. От всех родителей было получено добровольное информированное согласие на выполнение лечебно-диагностических мероприятий.

Всем детям проводилось комплексное диагностическое обследование, включавшее непрямую бинокулярную офтальмоскопию, биомикроскопию переднего отрезка глаза, цифровую ретиноскопию с использованием широкопольной цифровой ретинальной педиатрической видеосистемы «RetCam-3» («Massie Research Laboratories Inc», США), цифровую морфометрию выполняли в программе «ROP-MORPHOMETRY» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2009613950 от 24.07.2009, Калужский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза»). Интерпретацию данных диагностических исследований проводили в соответствии с разработанной клинико-морфометрической классификацией [2].

Все пациенты были разделены на две группы в зависимости от метода лазерной коагуляции. Основную группу составили 566 глаз 299 новорожденных с активной РН, на которых проводилась оптимизированная нами технология паттерновой лазерной коагуляции сетчатки (Паскаль). Из них II стадия РН с неблагоприятным типом течения процесса отмечалась на 111 глазах, III стадия с неблагоприятным типом течения – на 327, задняя агрессивная РН – на 128 глазах, из них на стадии ранних клинических проявлений – 86 глаз, на стадии манифестации – 42 глаза. В контрольную группу были включены 592 глаза 314 младенцев, на которых выполнялась лазерная коагуляция сетчатки по стандартной методике в режиме одиночного импульса. Из них II стадия РН с неблагоприятным типом течения процесса отмечалась на 116 глазах, III стадия – на 342, задняя агрессивная РН – на 134 глазах, в том числе 9 глаз на стадии ранних клинических проявлений и 44 глаза на стадии манифестации.

Лазерную коагуляцию сетчатки во всех случаях проводили транспупиллярно с использованием роговичной контактной линзы «Quad Pediatric Fundus Lens» («Volk», США), в положении ребенка лежа на боку, под аппаратно-масочным наркозом (кислородно-воздушной смесью с севофлураном) на наркозном аппарате «Fabius» (Dräger Medical AG&Co. KG, Germany).

Паттерновую лазерную коагуляцию аваскулярной сетчатки осуществляли по разработанному нами дифференцированному подходу [1], основанному на учете стадии и формы заболевания (классическое течение РН (II, III стадии), задняя агрессивная РН в стадии ранних клинических проявлений и стадии манифестации), тяжести течения и степени сосудистой активности (неблагоприятный тип течения РН), а также локализации процесса (с учетом общей площади аваскулярной сетчатки).

Оптимизацию методики паттерновой лазерной коагуляции в зависимости от вышеперечисленных факторов осуществляли по степени интенсивности коагуляции (мощности, экспозиции, диаметру пятна); плотности коагуляции (интервалу между лазерными аппликациями); видам и конфигурации используемых паттернов (табл. 1).

Эффективность лазерных вмешательств оценивали в послеоперационном периоде отдельно для каждой стадии и формы течения активной РН по признакам, характеризующим регресс заболевания: клиническим (уменьшение, уплощение и исчезновение демаркационного вала, регресс экстраретинальной фиброваскулярной пролиферации) и морфометрическим (уменьшение диаметра и извитости магистральных сосудов заднего полюса глаза (артерий, вен), диаметра периферических ретинальных сосудов, площади аваскулярной сетчатки).

Сроки наблюдения: до ЛКС, 1, 2 недели, 1, 3, 6 месяцев после ЛКС.

Для характеристики вариационных рядов использовали среднее значение (M) и среднюю ошибку (m). Уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В раннем послеоперационном периоде до 3 суток был проведен сравнительный анализ динамики морфометрических показателей центральных и периферических ретинальных сосудов, который показал, что реактивный синдром, выражающийся в преходящем увеличении кровенаполнения ретинальных сосудов, в меньшей степени был выражен и быстрее купировался в основной группе после выполнения паттерновой лазеркоагуляции ($p < 0,05$).

На II стадии РН с неблагоприятным типом течения с высоким риском прогрессирования процесса во всех случаях наблюдалось постепенное уплощение демаркационного вала с его последующим полным исчезновением, уменьшение диаметра и извитости магистральных сосудов

Таблица 1

Технология паттерновой лазеркоагуляции сетчатки для лечения различных стадий активной РН

Параметр / стадия РН		II стадия РН с неблагоприятным типом течения	III стадия с неблагоприятным типом течения	Стадия ранних клинических проявлений 3А РН	Стадия манифестации 3А РН
Морфометрические показатели ($M \pm m$)					
Диаметр центральных сосудов сетчатки, мкм	Артерий	68,06 ± 3,16	72,94 ± 2,87	78,58 ± 4,41	88,20 ± 4,52
	Вен	111,54 ± 1,97	130,76 ± 4,54	128,93 ± 3,03	157,48 ± 6,91
Диаметр периферических сосудов сетчатки, мкм	Артерий	52,89 ± 2,86	57,36 ± 0,95	61,80 ± 2,60	75,14 ± 2,03
	Вен	56,48 ± 0,40	61,66 ± 4,35	60,92 ± 2,54	71,38 ± 2,533
Коэффициент извитости артерий (КИ)		1,171 ± 0,44	1,160 ± 0,24	1,079 ± 0,018	1,204 ± 0,034
Площадь аваскулярной зоны S , мм ²		371,32 ± 50,41	328,92 ± 47,61	566,91 ± 73,30	497,49 ± 69,21
Энергетические параметры ЛКС					
Интенсивность коагуляции (степень)		1–2	2	2	3
Мощность лазерного излучения, мВт		125–200	200–350	225–375	250–450
Экспозиция, мс		20	30	20	30
Диаметр лазерного пятна, мкм		200	400	400	400
Плотность коагуляции (интервал между коагулятами, диаметр коагулята)		0,75–1,5	0,25–0,5	0,5	0,25
Виды паттернов (основной и дополнительные)		5 × 5, 4 × 4, 3 × 3, 2 × 2	5 × 5, 4 × 4, 3 × 3, 2 × 2	5 × 5, 4 × 4, 3 × 3, 2 × 2	5 × 5, 4 × 4, 3 × 3, 2 × 2
Общее количество коагулятов		673 ± 335	848 ± 343	1727 ± 357	1813 ± 362
Продолжительность ЛК, мин		6 ± 2	9 ± 3	19 ± 5	17 ± 5

сетчатки. В сроки 2–4 недели после вмешательства отмечались признаки прорастания концевых ретинальных сосудов между лазерными коагулятами в аваскулярную зону по направлению к зубчатой линии с восстановлением правильной ангиоархитектоники сетчатки к 3–4 неделям после вмешательства.

На III стадии РН с неблагоприятным типом течения через 2 недели после паттерновой ЛКС наблюдалось уплощение и истончение демаркационного вала, уменьшение высоты и объема экстраретинальной фиброваскулярной пролиферации, постепенная резорбция ретинальных геморрагий. Через один месяц демаркационный вал определялся лишь в отдельных сегментах. По мере пигментации коагулятов соответственно месту их нанесения отмечалось формирование зоны хориоретинальной атрофии с неоднородной пигментацией. Дальнейшее наблюдение за течением процесса указывало на продолженный рост ретинальных сосудов в зону коагуляции (ранее аваскулярную зону) и нормализацию морфометрических параметров.

На стадии ранних клинических проявлений задней агрессивной РН непосредственно после выполнения паттерновой лазеркоагуляции аваскулярной сетчатки в сроки 7–10 дней после вмешательства при положительной динамике

процесса наблюдалось значительное уменьшение сосудистой активности на глазном дне и выраженности ишемического отека сетчатки, уплощение и исчезновение демаркационного вала (при его наличии), увеличение зоны васкуляризированной сетчатки за счет «прорастания» концевых сосудов в зону коагуляции (см. рисунок).

На стадии манифестации задней агрессивной РН при положительной динамике процесса после выполнения паттерновой лазерной коагуляции аваскулярной сетчатки в максимальном объеме отмечались постепенный регресс экстраретинальной пролиферации с уплощением демаркационного вала, уменьшение экссудации в стекловидное тело, резорбция геморрагий, а также постепенное прорастание концевых ретинальных сосудов за пределы вала между коагулятами по направлению к крайней периферии в зону аваскулярной сетчатки, подвергнутой лазерной коагуляции.

В отношении динамики морфометрических показателей как в основной, так и контрольной группе установлено статистически значимое различие между средними значениями на различных сроках наблюдения (1-я неделя – 6 месяцев) в пределах каждой стадии РН ($p = (0,045–0,0001)$), что подтверждает данные клинических наблюдений, свидетельствующие об уменьшении диа-

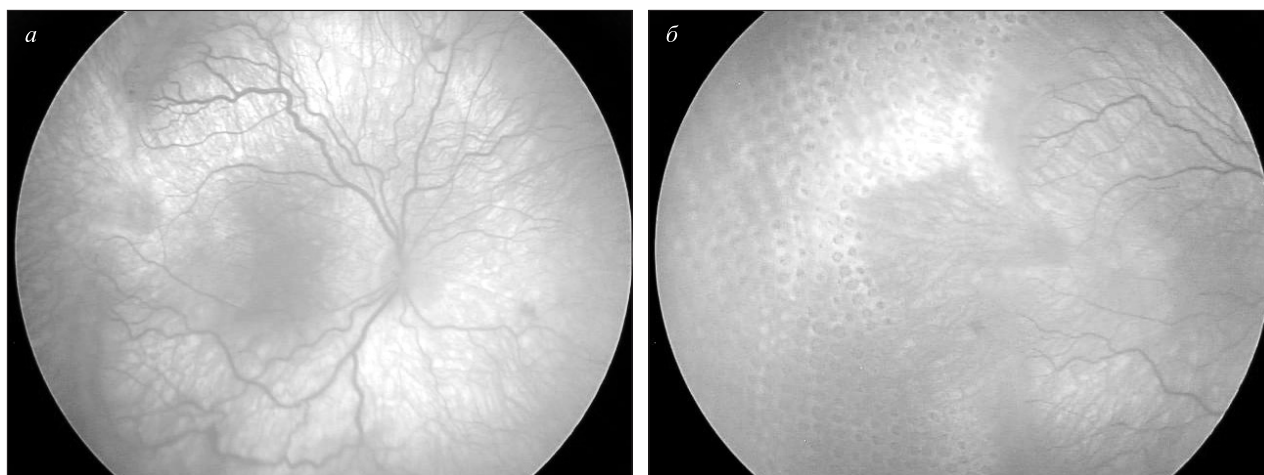


Рис. Глазное дно пациентки Ш., срок гестации – 30 недель. ЛК сетчатки в возрасте 5 недель (постконцептуальный возраст – 35 недель). Задняя агрессивная РН, стадия ранних клинических проявлений: а – до ЛКС; б – через 1 месяц после ЛКС

метра вен и артерий после лазерной коагуляции с течением времени и в центральной области, и на периферии. В качестве примера в табл. 2 приведена динамика морфометрических показателей после проведения паттерновой ЛКС на III стадии РН.

Анализ эффективности паттерновой ЛКС свидетельствует о том, что она не уступает стандартной, а по проценту регресса РН превосходит ЛКС в режиме одиночного импульса, хотя эта разница статистически не достоверна. Так, использование разработанного дифференцированного подхода к проведению дозированной паттерновой лазеркоагуляции аваскулярной зоны сетчатки обеспечивает регресс заболевания при неблагоприятном типе течения II стадии РН в 100 % случаев (в контроле – в 100 %), при неблагоприятном течении III стадии РН – в 96,4 % (в контроле – в 95,03 %), при задней агрессивной РН в стадии ранних клинических проявлений – в 80 % (в контроле – в 75,6 %), в стадии манифестации – в 61,6 % случаев (в контроле – в 59,1 %).

На основании проведенных исследований нами определены следующие показания для лазерной коагуляции, а именно: II стадия РН с неблагоприятным типом течения, III стадия неблагоприятного типа при классическом течении РН, задняя агрессивная ретинопатия недоношенных в стадии ранних клинических проявлений и манифестации. Основными критериями при определении показаний служат, помимо клинических признаков, характеризующих данные стадии, объективные количественные показатели состояния ретинальных сосудов, определяемые методом цифровой морфометрии (см. табл. 1).

Таблица 2

Динамика морфометрических показателей ретинальных сосудов после паттерновой коагуляции сетчатки в лечении неблагоприятного типа течения III стадии активной РН ($M \pm m$, $n = 327$)

Сосуды сетчатки	Зона глазного дна	Срок наблюдения	Основная группа
Артерии	Центр (диаметр, мкм)	До ЛКС	$72,94 \pm 2,87$
		1 неделя	$69,85 \pm 253$
		2 недели	$61,89 \pm 3,76$
		1 месяц	$49,28 \pm 2,69$
		3 месяца	$47,02 \pm 0,98$
		6 месяцев	$47,25 \pm 1,50$
	Периферия (диаметр, мкм)	До ЛКС	$57,36 \pm 0,95$
		1 неделя	$48,93 \pm 0,73$
		2 недели	$46,73 \pm 3,80$
		1 месяц	$40,10 \pm 0,77$
		3 месяца	$40,31 \pm 1,09$
		6 месяцев	$40,46 \pm 0,56$
Вены	Центр (диаметр, мкм)	До ЛКС	$130,76 \pm 4,54$
		1 неделя	$125,26 \pm 3,96$
		2 недели	$111,99 \pm 4,26$
		1 месяц	$92,01 \pm 2,87$
		3 месяца	$87,07 \pm 1,85$
		6 месяцев	$86,39 \pm 1,00$
	Периферия (диаметр, мкм)	До ЛКС	$61,66 \pm 4,35$
		1 неделя	$50,36 \pm 2,72$
		2 недели	$43,84 \pm 1,41$
		1 месяц	$37,69 \pm 1,85$
		3 месяца	$33,95 \pm 0,51$
		6 месяцев	$32,86 \pm 1,12$

ОБСУЖДЕНИЕ

По нашему мнению, дифференцированный подход к технологии паттерновой ЛКС в лечении РН должен заключаться в следующем. При выполнении ранней коагуляции, в случаях неблагоприятного течения II стадии, задней агрессивной РН на стадии ранних клинических проявлений либо РН 1-й зоны необходимо применение более щадящего функционально-сберегающего варианта лазерной коагуляции (дозированная коагуляция с низкой или умеренной интенсивностью и плотностью коагуляции). Тяжелые формы РН с высокой сосудистой активностью, подтверждаемой морфометрическими показателями сосудов в центре и на периферии, и обширной аваскулярной зоной требуют выполнения более агрессивной методики лазерной коагуляции в полном объеме, с максимальной плотностью и высокой интенсивностью.

С нашей точки зрения, выявление объективных маркеров прогрессирования РН, основанных на исследовании морфометрических показателей магистральных и периферических ретинальных сосудов и площади аваскулярной сетчатки, является обоснованием для расширения показаний к более раннему проведению лазерного лечения до развития III «пороговой» стадии заболевания.

Учитывая крайне неблагоприятный прогноз и молниеносность течения задней агрессивной РН, считаем обоснованным раннее выполнение дозированного лазерного лечения в паттерновом режиме на стадии ранних клинических проявлений данной формы заболевания. Следует также отметить, что проведение интенсивной коагуляции с высокой плотностью на стадии манифестации задней агрессивной РН неизбежно сопряжено с риском сужения полей зрения в отдаленном периоде. Следовательно, выполнение ранней дозированной коагуляции, оптимизированной по энергетическим параметрам и достаточной для достижения полной регрессии РН, может не только предотвратить неблагоприятные анатомические исходы, но и способствовать сохранению периферического зрения у недоношенных младенцев с тяжелыми формами РН.

Данное обстоятельство подчеркивает исключительную важность раннего выявления признаков прогрессирования ретинопатии недоношенных и проведения лазерного лечения в оптимальные сроки, составляющие 5–7 недель для классического течения заболевания и 5–6 недель для задней агрессивной формы РН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований убедительно свидетельствуют о том, что эффективность лазерного лечения определяется тремя основными факторами: исходной тяжестью течения заболевания (степенью выраженности сосудистых нарушений и локализацией процесса), своевременностью проведения и адекватностью лазеркоагуляции. Разработанная нами технология паттерновой лазеркоагуляции сетчатки Паскаль наиболее полно отвечает принципу адекватности, поскольку является наиболее прецизионным дозированным, контролируемым (по энергетическим параметрам и плотности коагуляции) и прогнозируемым по клиническому ответу воздействием; обеспечивает значительное сокращение продолжительности вмешательства, достигаемое за счет нанесения группы коагулятов (лазерных аппликаций) по предварительно выбранному шаблону (паттерну) с высокой скоростью сканирования, а следовательно, уменьшение времени пребывания недоношенного ребенка в наркозе; лазерная коагуляция необходимой площади аваскулярной сетчатки выполняется за один сеанс, вне зависимости от локализации патологического процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Терещенко А.В., Белый Ю.А., Володин П.Л. Первый опыт применения паттерновой сканирующей лазеркоагуляции сетчатки в лечении задней агрессивной ретинопатии недоношенных // Офтальмохирургия. 2010. (4). 14–18.
2. Терещенко А.В., Белый Ю.А., Трифаненкова И.Г. и др. Рабочая классификация ранних стадий ретинопатии недоношенных // Офтальмохирургия. 2008. (1). 32–34.
3. Alme A.M., Mulhern M.L., Hejkal T.W. et al. Outcome of retinopathy of prematurity patients following adoption of revised indications for treatment // BMC Ophthalmol. 2008. 8. 23–29.
4. Banach M.J., Ferrone P.J., Trese M.T. A comparison of dense versus less dense diode laser photocoagulation patterns for threshold retinopathy of prematurity // Ophthalmology. 2000. 107. (2). 324–327.
5. Blumenkranz M., Yellachich D., Andersen D. et al. Semiautomated patterned scanning laser for retinal photocoagulation // Retina. 2006. 26. 370–376.
6. Good W.V. Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Final results of the Early Treatment for Retinopathy of Prematurity (ETROP) randomized trial // Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 2004. 102. 233–248.

7. Jalaly S., Essuman V., Thomas R. Clinical application of the revised indication for the treatment of retinopathy of prematurity // Arch. Ophthalmol. 2005. 123. 407–408.

8. Velez-Montoya R., Guerrero-Naranjo J.L., Gonzalez-Mijares C.C. et al. Pattern scan laser photocoagulation: safety and complications, experience after 1301 consecutive cases // Br. J. Ophthalmol. 2010. 94. (6). 720–724.

TREATMENT OF ACTIVE STAGES OF RETINOPATHY OF PREMATURETY USING TECHNOLOGY OF PATTERN RETINAL PHOTOCOAGULATION

Aleksandr Vladimirovich TERESHCHENKO¹, Yuriy Aleksandrovich BELYIY¹, Pavel Lvovich VOLODIN², Irina Georgievna TRIFANENKOVA¹, Yuliya Aleksandrovna SIDOROVA¹

¹ Kaluga Branch of FSBI IRTC «Eye microsurgery» named by acad. S.N. Fedorov, Ministry of Health
248007, Kaluga, Sv. Fedorov str., 5

² S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
127486, Moscow, Beskudnikovsky Blvd, 59 A

Purpose. To develop a differentiated approach to laser treatment for active stages of retinopathy of prematurity using pattern retinal photocoagulation and evaluate its effectiveness. Material and methods. The study was conducted at 1158 eyes of 613 premature infants (gestation age – 25–31 weeks, birth weight – 670–1630 g). In the main group pattern retinal photocoagulation (Pascal) was performed, in the control – in single pulse regime. Results and discussion. Pattern photocoagulation advantages as compared with standard are the significant reduction in the duration of the intervention (not less than 2 times) and high dosage of impact.

Key words: retinopathy of prematurity, aggressive posterior retinopathy of prematurity, pattern retinal photocoagulation, differentiated approach.

Tereshchenko A.V. – candidate of medical sciences, director of the branch, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Belyiy Yu.A. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on scientific work, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Volodin P.L. – doctor of medical sciences, head of department, e-mail: volodinpl@mntk.ru

Trifanenkova I.G. – candidate of medical sciences, head of department, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Sidorova Yu.A. – head of department, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

ЗНАЧЕНИЕ СФЕРИЧЕСКИХ АБЕРРАЦИЙ В КЕРАТОРЕФРАКЦИОННОЙ ХИРУРГИИ МИОПИИ

**Виктор Петрович ФОКИН, Елена Станиславовна БЛИНКОВА,
Виталий Александрович СИВОЛОБОВ**

*Волгоградский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России,
400138, г. Волгоград, ул. Землячки, 80*

Проведены исследования сферических aberrаций в фотопических и скотопических условиях до и после 226 билатеральных операций ЛАЗИК на эксимерном лазере Schwind Amaris (Германия) у 113 пациентов с миопией. Для оптической зоны, соответствующей скотопическим условиям, после ЛАЗИК характерно увеличение уровня сферических aberrаций. Для его уменьшения перед выполнением ЛАЗИК необходимо рассчитывать оптическую зону роговицы по индивидуальным анатомическим параметрам, с учетом размера зрачка в скотопических условиях. Эффективная оптическая зона роговицы должна соответствовать рассчитанной оптической зоне роговицы.

Ключевые слова: миопия, ЛАЗИК, оптическая зона роговицы, зрачок, сферические aberrации.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время благодаря современным исследованиям изменений в роговице при лазерной абляции последним достижениям aberрометрии и совершенствованию профиля абляции существует необходимость новых, индивидуальных подходов для достижения оптимальных результатов в кераторефракционной хирургии [1, 3, 5, 6]. Наибольший интерес в настоящее время уделяется необходимости коррекции aberrаций высокого порядка, так как они вызывают у пациента дефекты качества изображения и затуманивание зрения. При сведении aberrаций к минимуму формируется более качественное изображение на сетчатке и улучшается зрительное восприятие пациентов [2]. Эксимерлазерная хирургия (ЭЛХ) для коррекции aberrаций высокого порядка является операцией выбора, при миопии она обеспечивает уплощение центральной части роговицы и уменьшение величины сферической aberrации [4, 5].

У претендентов на ЭЛХ может возникать также множество симптомов, которые согласно их предположениям удастся устранить в результате операции, среди них гало (появление кругов вокруг источников света, особенно ночью), а также блики, проявляющиеся ухудшением зрения при

ярком свете. Распознавание этих симптомов, изучение их влияния на качество жизни пациента дает возможность специалистам по коррекции зрения индивидуально подходить к лечению и ведению таких пациентов. Изменения ночного зрения могут отмечаться также после ЭЛХ и объясняются усилением роговичных aberrаций после проведения лазерной абляции, особенно коматоподобных и сферических aberrаций, а также несоответствием между диаметром сформированной операцией оптической зоны роговицы и диаметром зрачка: при расширении зрачка в условиях низкой освещенности края абляции могут попадать в оптическую зону роговицы и создавать aberrированное изображение на сетчатке, ухудшая контраст и увеличивая слепимость, которые наблюдаются в 6–37 % случаях [7, 8].

Оптической зоной (ОЗ) в офтальмологии принято считать воображаемую проекцию зрачка на роговице. При проведении кераторефракционной хирургии эту зону расширяют до уровня зрачка в скотопических условиях. Важность учета размера зрачка в скотопических условиях при планировании кераторефракционной операции позволяет предупредить возможность возникновения aberrированного изображения на сетчатке.

Таким образом, при планировании операции ЛАЗИК представляется весьма важным индиви-

Фокин В.П. – д.м.н., проф., директор

Блинкова Е.С. – врач-офтальмолог, e-mail: sergej-balalin@yandex.ru

Сиволобов В.А. – медицинский техник

дуально определить размер оптической зоны роговицы для скотопических условий (ОЗР). Цель работы – оценить зависимость размера сформированной эффективной оптической зоны на изменение уровня сферических aberrаций после миопического ЛАЗИК в ОЗР.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено исследование по данным сплошной выборки, которую составили результаты 226 билатеральных операций ЛАЗИК у 113 пациентов, выполненных в клинике Волгоградского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» на эксимерном лазере Schwind Amaris 500 Гц (Германия). Критерием включения в группу исследования являлось достижение некорригированной остроты зрения после операции (НКОЗ) не ниже максимально корригированной остроты зрения до операции (МКОЗ), получение целевой рефракции в виде эметропии, по признаку устраненных aberrаций низкого/первого порядка. Степень исходной миопии составила от $-1,5$ до $-12,5$ дптр. Возраст пациентов варьировал от 18 до 37 лет (в среднем 26 лет), мужчин – 9 человек, женщин – 30. Всем пациентам проводили стандартное предоперационное обследование, в том числе пупиллометрию в скотопических условиях, aberrометрию, кератотопографию на диагностической станции Ocular Wavefront Analyzer, Keratron Scout Optikon 2000 (Германия).

Формирование роговичного лоскута осуществляли микрокератомом MORIA M2 с применением головок SU90 (Франция). Срок наблюдения – не менее 3 мес. Средний диаметр сформированной эффективной (функциональной) оптической зоны (ЭОЗ) оценивали по аксиальной топограмме с отклонением рефракции не более 0,5 дптр от данных офтальмометрии в центральной зоне роговицы [3].

Размер оптической зоны роговицы (ОЗР) рассчитывали по формуле, предложенной в Волгоградском филиале ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза»: $ОЗР = Д \times ПЗР / (ПЗР - ПК)$, где ОЗР – диаметр оптической зоны роговицы, Д – диаметр зрачка в скотопических условиях, ПЗР – переднезадний размер глазного яблока, ПК – глубина передней камеры.

Предложенный нами расчет, основанный на тригонометрической функции острого угла (отношение различных пар сторон прямоугольного треугольника), наглядно показывает, что индивидуальный размер ОЗР для скотопических условий зависит не только от размера зрачка, но и от анатомических параметров глаза: чем меньше

ПЗР, тем больше ОЗР, чем больше ПК, тем больше ОЗР. Данный расчет дает возможность получить индивидуальные значения, в отличие от известного способа, определяющего, что ОЗР на 1 мм больше, чем размер зрачка [1].

Проведен анализ зависимости изменения уровня сферических aberrаций стандартно в 4-миллиметровой зоне, выбранной нами как соответствующей фотопическим условиям, и в ОЗР, рассчитанной индивидуально для скотопических условий до и после операции по данным измерений корнеального и тотального волнового фронта. Также был проведен опрос субъективной суммарной оценки пациентами до и после операции таких жалоб как видение ореолов, дополнительных лучей вокруг источников света и ослепление фарами встречных машин в ночное время.

Фракционный клиренс был определен как коэффициент соотношения ЭОЗ к ОЗР. Зависимость изменения сферических aberrаций оценивали по 3 группам: 1-я группа – пациенты, у которых диаметр полученной ЭОЗ меньше диаметра ОЗР и не превышает 0,84 (78 глаз), 2-я группа – пациенты, у которых полученная ЭОЗ совпадает с ОЗР и составляет от 0,85 до 0,99 (86 глаз), 3-я группа – пациенты, у которых ЭОЗ больше ОЗР и превышает 1,0 (62 глаза). Сферический компонент исходной рефракции составил в 1-й группе $6,26 \pm 0,42$ дптр, во 2-й группе $5,17 \pm 0,51$ дптр, в 3-й группе $2,96 \pm 0,21$ дптр, астигматический компонент исходной рефракции – соответственно $0,54 \pm 0,09$, $0,8 \pm 0,1$ и $0,69 \pm 0,12$.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении расчета хирургического вмешательства, для профилактики возникновения побочных световых эффектов расчетная ОЗ, определяемая хирургом, использовалась большей либо равной ОЗР. При увеличении степени миопии имелась тенденция к уменьшению ОЗ (табл. 1), что объясняется целью хирурга на этапе расчета операции ЛАЗИК минимизировать глубину абляции для сохранения безопасной остаточной толщины роговицы. Наряду с этим программное обеспечение эксимерлазерной установки обеспечивает компенсацию, выражающуюся в увеличении так называемой «транс-зоны» и

Таблица 1

Величина сферозэквивалента миопии (SE), диаметра зрачка (D), оптической зоны (OЗ), эффективной оптической зоны (ЭОЗ) и оптической зоны роговицы (OЗР) у пациентов после ЛАЗИК

Группа	SE, дптр	D, мм	OЗ, мм	ЭОЗ, мм	OЗР, мм
1-я группа	-6,53±0,40	5,71 ± 0,09	6,46 ± 0,04	5,26± 0,11	6,70 ±0,10
2-я группа	-5,57± 0,50	5,81 ± 0,11	6,54 ± 0,04	6,20± 0,11*	6,77± 0,13
3-я группа	-3,31 ±0,20	5,44 ± 0,20	6,70 ± 0,20	6,90 ± 0,10*	6,27± 0,17

* Отличие от величины соответствующего показателя пациентов 1-й группы статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2

Субъективная оценка удовлетворенности пациентов состоянием до и после ЛАЗИК

Группа	Ореолы		Дополнительные лучи		Ослепление	
	До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции
1-я группа	8,9±0,26	8,5±0,5	8,5±0,4	8,5±0,4	7,7±0,5	7,8±0,5
2-я группа	4,1±0,7	9,6±0,2*	4,6±0,7	9,7±0,2*	5,4±0,6	9,1 ±0,3*
3-я группа	4,3±0,5	9,75±0,7*	6,9±0,7	9,9±0,7*	5,4±0,5	9,0±0,7*

Примечание. Здесь и в табл. 3 * – отличие от величины соответствующего показателя до операции статистически значимо при $p < 0,05$.

соответствующем увеличении общей зоны абляции. Величина общей зоны абляции составила в 1-й группе 7,87±0,06 мм, во 2-й – 7,8±0,07 мм, в 3-й – 7,32±0,33 мм, и во всех случаях превосходила OЗР. Диаметр ЭОЗ у пациентов 2 и 3 групп был статистически значимо больше, чем у пациентов группы 1; при сравнении значения данного показателя с величинами OЗ и OЗР отмечено, что у лиц групп 1 и 2 оно было выше. При проведении ЛАЗИК отмечено расширение ЭОЗ в 3-й группе с миопией меньшей степени. Необходимо отметить также, что диаметр ЭОЗ в 1-й группе был достоверно меньше диаметра зрачка в скотопических условиях, в то время как в группах 2 и 3 – напротив, достоверно больше.

В рамках исследования был проведен опрос субъективной оценки пациентами до и после операции, по 10-балльной шкале, таких субъективных жалоб, как видение ореолов, дополнительных лучей вокруг источников света и ослепление фарами встречных машин в ночное время. До операции 9 пациентов 1-й группы пользовались очками, 19 – контактными линзами, не использо-

вавших коррекцию не было, во 2-й группе соответствующее число пациентов составило 14, 7 и 0, в 3-й группе – 5, 5 и 8. Этим можно объяснить более высокую субъективную оценку состояния лиц 1-й группы (табл. 2), имевших лучшее качество зрения. После операции отмечено достоверное повышение субъективной оценки ночного зрения у пациентов групп 2 и 3.

При анализе сферических аберраций в 4-миллиметровой зоне у пациентов ни одной из групп не выявлено их достоверного увеличения, что подтверждает важность учета диаметра зрачка в скотопических условиях. При анализе сферических аберраций в OЗР по данным корнеального волнового фронта установлено их значительное возрастание в группах 1 и 2, наиболее выраженное в 1-й группе (табл. 3). Уровень сферических аберраций по данным корнеального фронта увеличивается прямо пропорционально объему абляции по SE. В 3-й группе статистически значимых изменений после операции не отмечено (см. табл. 3), что подтверждает клиническую значимость превышения размера ЭОЗ над размером зрачка в скотопических условиях.

Полученная математическая модель расчета OЗР, учитывающая индивидуальные анатомические параметры глаза и величину зрачка, позволяет на этапе расчета операции ЛАЗИК повысить OЗ для достижения необходимой ЭОЗ для профилактики значимого увеличения сферических аберраций и увеличения побочных скотопических эффектов.

Таблица 3

Величина сферических аберраций в OЗР до и после ЛАЗИК по данным корнеального волнового фронта

Группа	До операции	После операции
1-я группа	0,22±0,01	0,65±0,01*
2-я группа	0,24±0,02	0,49±0,03*
3-я группа	0,17±0,01	0,30 ± 0,08

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный нами расчет ОЗР наглядно указывает на зависимость анатомических параметров и размера зрачка на индивидуальный размер ОЗР. Достижение ЭОЗ размера ОЗР, рассчитанного по индивидуальным анатомическим параметрам, с учетом зрачка в скотопических условиях позволяет уменьшить уровень сферических aberrаций. Последнее способствует улучшению качественных оценок ночного зрения после миопического ЛАЗИК. Использование способа расчета ОЗР позволяет усовершенствовать методику в профилактике побочных скотопических эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Корниловский И.М., Шишкин М.М., Карпов В.Е. Побочные оптические эффекты в фоторефракционной и катарактальной хирургии // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии. М., 2009. С. 222–333.
2. Applegate R.A. Glenn Fry award lecture 2002 wavefront sensing, ideal corrections and visual performance // *Optom. Vis. Sci.* 2004. 81 (3). P. 167–177.

3. Bühren J., Kühne C., Kohnen T. Influence of pupil and optical zone diameter on higher-order aberrations after wavefront-guided myopic LASIK // *J. Cataract. Refract. Surg.* 2005. 31. (12). P. 2272–2280.
4. Holladay J.T., Janes J.A. Topographic changes in corneal asphericity and effective optical zone after laser in situ keratomileusis // *J. Cataract. Refract. Surg.* 2002. 28. (6). P. 942–947.
5. Gatinel D., Malet J., Hoang -Xuan T., Azar D.T. Analysis of Customized Corneal Ablations: Theoretical Limitations of Increasing Negative Asphericity // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2002. 43. (4). P. 941–948.
6. Kezerian G.M. Patient selection for Wavefront-Guided Treatments // *J. Cataract. Refract. Surg.* 2011. 2. P. 40–42.
7. Piers P.A., Monzanera S., Prieto P.M., Gorceix N., Artal P. Use of adaptive optics to determine the optimal ocular spherical aberration // *J. Cataract. Refract. Surg.* 2007. 33 (10). P. 1721–1726.
8. Shalhorn S.C., Kapp S.E., Janzer D., Tidwell J., Laurent J., Bbourque L. Pupil size and quality of vision after LASIK // *Ophthalmol.* 2003. 110 (8). P. 1606–1614.

SIGNIFICANCE OF SPHERICAL ABERRATIONS IN KERATOREFRACTIVE SURGERY OF MYOPIA

Viktor Petrovich FOKIN, Helena Stanislavovna BLINKOVA, Vitaliy Aleksandrovich SIVOLOBOV

S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Volgograd Branch
400138, Volgograd, Zemlyatchki str., 80

The investigation of spherical aberrations measured in photopic and scotopic conditions prior to and after 226 bilateral LASIK procedures performed on excimer laser Schwind Amaris (Germany) was carried out in 113 myopic patients. It is known that optical zone appropriate for scotopic conditions tends to increase rate of spherical aberrations after LASIK. To eliminate this, it is essential to calculate corneal optical zone with consideration to individual anatomic parameters and pupil diameter in scotopic conditions. Effective corneal optical zone should correspond to the calculated one.

Key words: myopia, LASIK, corneal optical zone, pupil, spherical aberrations.

Blinkova H.S. – ophthalmologist, e-mail: sergej-balalin@yandex.ru
Fokin V.P. – doctor of medical sciences, professor, director
Sivolobov V.A. – medical technician

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГЛАУКОМНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ ОТ ЛАТЕНТНОЙ ДО РАЗВИТОЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Татьяна Николаевна ЮРЬЕВА¹, Юлия Сергеевна ПЯТОВА¹,
Александр Анатольевич ХУДОНОГОВ², Андрей Геннадьевич ЩУКО¹

¹ Иркутский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337

² ГБОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

Цель исследования – выявить закономерности и механизмы структурных и функциональных изменений нейроретинального комплекса при формировании глаукомной оптической нейропатии. Обследовано 94 человека с ранними стадиями глаукомы с помощью спектральной оптической томографии, хроматических методов периметрии и электрофизиологических исследований. Установлено, что формирование глаукомной нейропатии начинается с деформации дендритов ганглиозных клеток сетчатки, далее происходит изменение их аксонов, что подтверждается увеличением показателя объема глобальной потери ганглиозного комплекса сетчатки и последующего уменьшения толщины нервных волокон.

Ключевые слова: латентная стадия глаукомы, комплекс ганглиозных клеток, ОСТ-диагностика глаукомы.

Первичная открытоугольная глаукома, несмотря на большое количество исследований, посвященных раскрытию этиологии и патогенеза этого заболевания, остается энigmatической проблемой офтальмологии [2]. Глаукома характеризуется проградентным течением и нарастанием структурных и функциональных изменений зрительной системы, с преимущественным поражением нейроретинального комплекса. Согласно литературным данным, в среднем 3 % всего населения земного шара (около 60 млн человек) страдают глаукомой, из них 45 млн – открытоугольной формой заболевания (ОУГ) [10]. Как минимум 8 млн пациентов с глаукомой являются слепыми на оба глаза, и их количество неуклонно растет. Столь угрожающая статистика свидетельствует об объективных трудностях, связанных как с диагностикой, так и с лечением данного заболевания [1, 3].

Основные проблемы, обуславливающие отсутствие четких диагностических алгоритмов, могут быть связаны с недостатком сведений о закономерностях структурных изменений и нару-

шений зрительных функций на всех этапах формирования патологического процесса.

Quigley в 1991 г. утверждал, что структурные изменения зрительного нерва в среднем на 5 лет опережают дефекты поля зрения, что противоречит известному постулату о неразрывности структуры и функции в любых процессах онтогенеза [11]. И то, что в ряде случаев патологические изменения выявить не удастся, свидетельствует лишь о недостаточной разрешающей возможности существующих методов исследования.

Поэтому основной целью нашей работы было установить закономерности и механизмы структурных и функциональных изменений нейроретинального комплекса при формировании глаукомной оптической нейропатии.

Было предположено, что полученные результаты позволят выявить наиболее информативные критерии развития ранних стадий ОУГ, определить наиболее чувствительные методы исследования структуры и функций сетчатки и зрительного нерва на разных стадиях глаукомного процесса, а также оптимизировать алгоритм диагностики и мониторинга больных ОУГ.

Юрьева Т.Н. – д.м.н., зам. директора по научной работе, проф. кафедры глазных болезней,
e-mail: tnyurieva@mail.ru

Пятова Ю.С. – врач-офтальмолог, e-mail: j_piatova@mail.ru

Худоногов А.А. – к.м.н., ассистент кафедры глазных болезней

Щуко А.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой глазных болезней, директор

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клинические исследования проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (1964 г. с поправками 2000 г.) и Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». У пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании.

Для реализации поставленной цели проведено всестороннее исследование 94 человек с первичной ОУГ. Основными критериями включения в клиническую группу были повышенный уровень внутриглазного давления (ВГД), острота зрения не ниже 0,6, идентичные размеры диска зрительного нерва (ДЗН), что позволило сопоставить полученные результаты исследования у данных больных.

На основании тщательного клинического анализа и в соответствии с размером экскавации ДЗН, определяемым с помощью оптической когерентной томографии (ОСТ), все пациенты были разделены на 3 группы. Первую группу составили пациенты, у которых по данным ОСТ при средних размерах ДЗН 2,2 мм² показатель, характеризующий размеры экскавации ДЗН (cup/disc), колебался от 0,1 до 0,5 и в среднем составил $0,32 \pm 0,11$. Кольцо нейроглии у пациентов этой группы было сохранено, толщина слоя нервных волокон (СНВ) находилась в пределах средне-статистической нормы и составила в среднем $101,5 \pm 12,6$ мкм. На момент исследования ВГД у пациентов этой группы не было компенсировано медикаментозно и, согласно современной классификации, им был выставлен диагноз «латентная стадия глаукомы высокого давления». Во вторую группу вошли пациенты с экскавацией ДЗН от 0,4 до 0,6 ($0,56 \pm 0,09$), кольцо нейроглии у них могло быть истончено, но сохранно, толщина СНВ составила $95,06 \pm 9,46$ мкм, а офтальмологический статус соответствовал I стадии ОУГ. Третью группу составили пациенты с экскавацией от 0,5 до 0,8 ($0,59 \pm 0,10$), со значительным истончением кольца нейроглии ДЗН и толщиной СНВ $80,2 \pm 11,22$ мкм. Определялись локальные дефекты нейроретинального ободка, площадь которых не превышала 1–2 сектора по данным ОСТ, что соответствовало II стадии ОУГ. Группу контроля составили 20 человек, распределение которых по возрасту и гендерному признаку соответствовало пациентам клинических групп. Острота зрения в этой группе составила $0,7 \pm 0,15$, экскавация ДЗН

не превышала 0,4, эпизодов подъема ВГД зафиксировано не было.

Морфологические изменения сетчатки и зрительного нерва оценивали при помощи традиционной офтальмоскопии и высокоразрешающей ОСТ HD (RTVue-100, Optovue, США). При этом основными критериями, характеризующими патологические изменения ДЗН по данным ОСТ HD, были размеры экскавации и толщина СНВ, которую определяли по четырем квадрантам и суммарно по всей площади диска [8, 15]. Визуализацию и оценку состояния ганглиозного комплекса сетчатки проводили в 15 градусах от точки фиксации. Выбор данной области исследования был обусловлен тем, что значительная часть популяции ганглиоцитов располагается именно в этой зоне, где их клеточные тела образуют до 7 слоев и составляют основную часть сетчатки. При этом ганглиозный комплекс включает непосредственно СНВ (аксоны), слой ганглиозных клеток (клеточные тела) и внутренний плексиформный слой сетчатки – дендриты [9, 12, 13]. Учитывали следующие показатели: объем глобальной потери (GLV %), объем фокальной потери (FLV %), средняя толщина (average thickness), толщина верхнего сегмента (superior thickness), толщина нижнего сегмента (inferior thickness) [4, 6, 7].

Для всестороннего понимания не только структурных изменений сетчатки и зрительного нерва при формировании глаукомной нейропатии, но и изменения их функциональной активности, в работе учитывались топографическое распределение различных пулов ретинальных нейронов и их специализированная чувствительность к различной длине световой волны. Центральный фовеолярный участок около 1 градуса в диаметре, свободный от ганглиозных клеток, представлен преимущественно L- и M-колбочками, чувствительными к длине волны красного и зеленого цвета. Для прицельного исследования этой зоны проводили ахроматическую компьютерную периметрию в 10 градусах от точки фиксации с использованием программы 10-2, преимуществом которой является возможность исследования большего количества стимулов [5].

Далее располагается зона фовеальной депрессии, около 5 градусов в диаметре. Еще периферийнее, на скате фовеа, содержится максимальное количество бистратифицированных синечувствительных S-ганглиозных клеток, аксоны которых непосредственно участвуют в формировании нижне- и верхнетемпоральных секторов ДЗН. С целью прицельного исследования функций S-ганглиоцитов проводили высокочувствительную SWAP-периметрию [11].

Кроме того, в работе были использованы цветооппонентные методы электроретинографии с предъявлением реверсивных паттернов с размером ячеек 0,75 и на 0,3 градуса с ахроматическим и цветооппонентными (сине-желтым и красно-зелеными) стимулами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С учетом того, что в исследовании использовались практически все методы, позволяющие на современном этапе всесторонне оценить структурные и функциональные изменения нейроретинального комплекса, мы предположили, что нам удастся, сопоставив полученные результаты, определить последовательность развития глаукомной нейрооптикoпатии. Всего было получено 39 параметров, результаты сравнивали попарно: норма – латентная стадия, латентная стадия – I стадия, I стадия – II стадия с расчетом достоверной разницы по критериям Стьюдента и Манна – Уитни. Кроме того, был проведен

многофакторный анализ полученных результатов с построением уравнений канонической величины, в которые вошли наиболее информативные показатели, попарно дискриминирующие исследуемые группы. Наиболее значимыми при исследовании структурных изменений оказались: объем глобальной потери ганглиозного комплекса сетчатки (GLV %), показатель толщины слоя нервных волокон (RNFL), размер экскавации (cup area), соотношение ДЗН к размеру экскавации (cup/disc vertical). При исследовании зрительных функций наиболее информативным при всех видах периметрии (SWAP-периметрия, SAP-24-2, SAP-10-2) оказалось среднее отклонение (MD), характеризующее отклонение световой чувствительности сетчатки от возрастной нормы. Кроме того, в построении уравнения канонической величины участвовал показатель амплитуды паттерн-электроретинограммы (ПЭРГ), что показано в табл. 1–3.

Оказалось, что у пациентов в латентной стадии патологического процесса наиболее значи-

Таблица 1

Критерии дискриминации пациентов с латентной стадией глаукомы и лиц группы контроля по данным многофакторного статического анализа

Показатель	F-remove	p-level
Среднее отклонение MD (VF 10-2)	36,17	0,000001
Область нейроретинального ободка ДЗН (Rim area)	13,94	0,000709
Объем глобальной потери (GLV %)	9,42	0,004257

Таблица 2

Критерии дискриминации пациентов с латентной и с I стадией ОУГ по данным многофакторного статического анализа

Показатель	F-remove	p-level
Объем глобальной потери (GLV %)	49,2	0,000001
Область нейроретинального ободка ДЗН (Rim area)	25,05	0,000034
Средняя светочувствительность сетчатки (MS) SWAP-периметрия	4,95	0,037023
Среднее отклонение (MD) SWAP-периметрия	14,46	0,001038

Таблица 3

Критерии дискриминации пациентов с I и II стадиями ОУГ по данным многофакторного статического анализа

Показатель	F-remove	p-level
Толщина слоя нервных волокон (RNFL)	27,30	0,000798
Экскавация диска зрительного нерва (Cup area)	9,93	0,013553
Амплитуда ПЭРГ на красно-зеленый стимул (Amp R-G75)	5,63	0,045019
Соотношение экскавации к диску зрительного нерва (c/d vertical)	4,06	0,078403

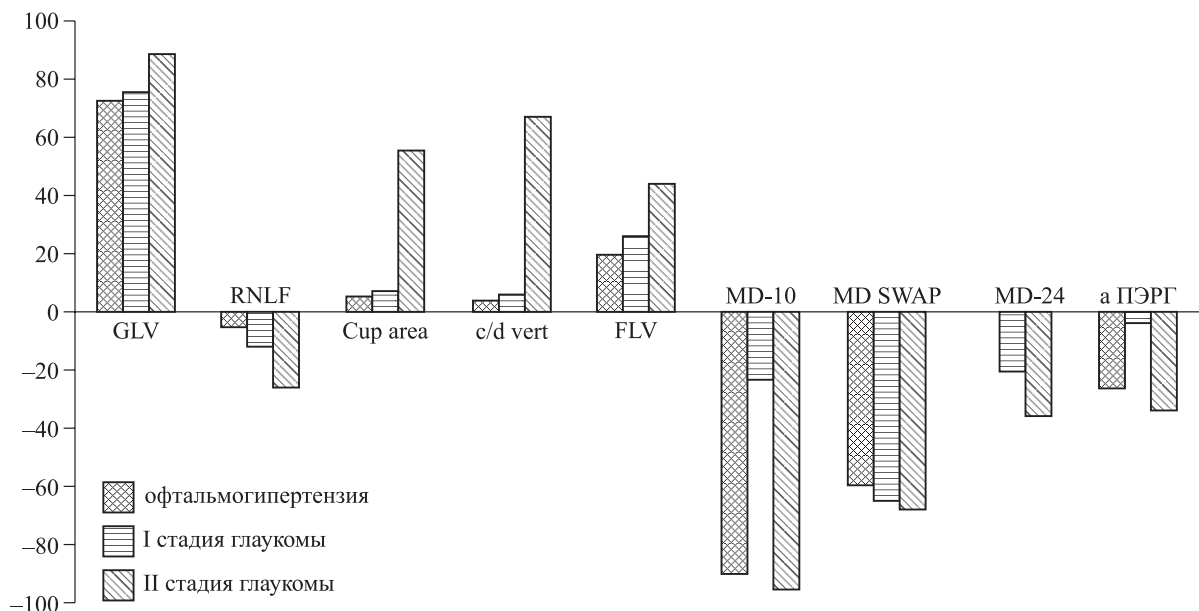


Рис. Изменения наиболее информативных показателей, характеризующих структурно-функциональное состояние нейроретинального комплекса, на различных стадиях ОВГ

мым критерием структурных изменений сетчатки был показатель объема глобальной потери ганглиозного комплекса (GLV %), который превышал в 3,5 раза ($p = 0,004$) данные группы контроля. Это сопровождалось снижением световой чувствительности по данным периметрии 10-2 в 19 раз ($p = 0,001$), SWAP-периметрии в 11,5 раза ($p < 0,05$) и уменьшением амплитуды комплекса P50 и N 95 на все виды ахроматической и цвето-оппонентной электроретинографии (табл. 1).

У пациентов первой стадии произошло незначительное нарастание объема глобальной потери (GLV %) ганглиозного комплекса сетчатки, достоверно не отличающегося от показателей пациентов латентной стадии заболевания. Информативность экскавации ДЗН объяснялась тем, что данный показатель служил критерием отбора в исследуемые группы.

Важными являются данные, свидетельствующие о том, что компенсация ВГД привела к кардинальному перераспределению показателей, характеризующих функциональное состояние сетчатки. Снижение ВГД сопровождалось нормализацией показателей центральной периметрии, ПЭРГ, что свидетельствует об их функциональной преходящей депрессии на фоне повышенного ВГД. В то же время у пациентов этой группы было выявлено нарастающее статистически достоверное снижение индексов SWAP-периметрии, что могло быть обусловлено угнетением функциональной активности S-ганглиоцитов, отличающихся широкими рецептивными полями (табл. 2).

Вторая стадия глаукомы характеризовалась нарастанием морфологических изменений ДЗН, включением в уравнение канонической величины всех показателей, характеризующих состояние комплекса ганглиозных клеток, значимым снижением толщины СНВ, а также увеличением размеров глаукомной экскавации. У пациентов этой группы наблюдалось снижение индексов всех видов компьютерной периметрии. В то же время объективные исследования функционального состояния ганглиозного комплекса сетчатки с помощью ПЭРГ значимых изменений не выявили (табл. 3).

Перераспределение исследуемых показателей по уровню их информативности на каждой стадии глаукомного процесса представлено на рисунке.

Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует о том, что превышение толерантного уровня ВГД в первую очередь сопровождается уменьшением объема ганглиозного комплекса сетчатки. Обратимая функциональная депрессия фоторецепторов и ганглиоцитов, расположенных преимущественно в центральной – аваскулярной – зоне сетчатки, отсутствие изменений в толщине СНВ, представленных в основном аксонами ганглиозных клеток, позволили предположить, что формирование глаукомной нейропатии начинается с деформации дендритов ГК, основным критерием изменения которых является увеличение объема глобальной потери ганглиозного комплекса сетчатки (GLV %).

На следующем этапе в патологический процесс включаются аксоны ганглиоцитов, как правило, в первую очередь именно тех клеток, которые имеют большие рецептивные поля (разветвленные дендриты), т.е. S-клеток, преимущественно расположенных в проекции зоны Бьеррума.

Данные результаты согласуются с экспериментальными исследованиями Weber и соавт., которые на модели глаукомы у приматов показали, что сокращение дендритных полей может задолго предшествовать гибели ганглиозных клеток и нервных волокон и определять изменение толщины всего комплекса ганглиозных клеток сетчатки [14]. Эта теория получила название теории дендритных полей. Таким образом, можно сказать, что модель глаукомной дегенерации у человека также начинается с изменения дендритов, на следующем этапе сопровождается повреждением аксонов с последующим включением в патологический процесс непосредственно ганглиоцитов, что подтверждается их абсолютным функциональным дефицитом на развитых стадиях глаукомы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курьшова Н.И. Глаукомная оптическая нейропатия. М.: МЕДпресс, 2006. 172 с.
2. Нестеров А.П. Первичная открытоугольная глаукома, патогенез и принципы лечения // Клинич. офтальмология. 2000. (1). 4–5.
3. Страхов В.В., Алексеев В.В., Ермакова А.В. Информативность биоретинотрических показателей диска зрительного нерва и сетчатки в ранней диагностике первичной глаукомы // Глаукома. 2009. (3). 3–10.
4. Bagga H., Greenfield D.S., Knighton R.W. Macular symmetry testing for glaucoma detection // J. Glaucoma. 2005. 14. 358–363.
5. Hood D.C., Raza A.S., de Moraes C.G.V. et al. Initial arcuate defects within the central 10 degrees in glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011. 52. (2). 940–946.
6. Kim N.R., Lee E.S., Seong G.J. et al. Structure-function relationship and diagnostic value of macular ganglion cell complex measurement using Fourier-domain OCT in glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. S 4646–S 4651.
7. Lederer D.E., Schuman J.S., Hertzmark E. et al. Analysis of macular volume in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography // Am. J. Ophthalmol. 2003. 135. 838–843.
8. Lu A.T., Wang M., Varma R. et al. Combining nerve fiber layer parameters to optimize glaucoma diagnosis with optical coherence tomography. Advanced imaging for glaucoma study group // Ophthalmology. 2008. 115. 1352–1357.
9. Mori S., Hangai M., Nakanishi H. et al. Macular inner and total retinal volume measurement by spectral domain optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. Kyoto: Kyoto Univ., 2008. 30 p.
10. Quigley H.A. Clinical trials for glaucoma neuroprotection are not impossible // Curr. Opin. Ophthalmol. 2012. 23. 144–154.
11. Sommer A., Katz J., Quigley H.A. et al. Clinically detectable nerve fiber atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss // Arch. Ophthalmol. 1991. 109. 77–83.
12. Tan O., Li G., Lu A.T. et al. Mapping of macular substructures with optical coherence tomography for glaucoma diagnosis // Ophthalmology. 2008. 115. 949–956.
13. Tan O., Chopra V., Lu A.T. et al. Detection of macular ganglion cell loss in glaucoma by Fourier-domain optical coherence tomography // Ophthalmology. 2009. 116. (12). 2305–2314.
14. Weber A.J., Kaufman P.L., Hubbard W.C. Morphology of single ganglion cells in the glaucomatous primate retina // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1998. 39. (12). 2304–2320.
15. Zeimer R., Shahidi M., Mori M. et al. A new method for rapid mapping of the retinal thickness at the posterior pole // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1996. 37. 1994–2001.

REGULARITIES OF FORMATION OF GLAUCOMATOUS OPTIC NEUROPATHY FROM LATENT TO ADVANCED STAGE OF THE DISEASE

**Tat'yana Nikolaevna YUREVA¹, Yulia Sergeevna PYATOVA¹,
Aleksandr Anatol'evich KHUDONOGOV², Andrej Gennad'evich SHCHUKO¹**

¹ *Irkutsk Branch of Sv. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
664033, Irkutsk, Lermontov str., 337*

² *Irkutsk State Medical University
663003, Irkutsk, Krasnogo Vosstanya str., 1*

Purpose: to determine regularities and mechanisms of structural and functional changes in neuro-retinal complex in formation of glaucomatous optic neuropathy. Methods: 94 people with early stages of glaucoma were examined with spectral optical tomography, chromatic methods of perimetry, electroretinography and electrophysiological examination. Results: Formation of glaucomatous neuropathy begins from deformation of dendrites of ganglion retinal cells, and then change of their axons occurs, which is confirmed by volume index increase of ganglion retinal complex global loss and following decrease of neural fiber thickness.

Key words: latent stage of glaucoma, complex of ganglion cells, OCT diagnostics of glaucoma.

*Yureva T.N. – doctor of medical sciences, professor of the chair for ophthalmology, vice director for scientific work,
e-mail: tnyurieva@mail.ru*

Pyatova Yu.S. – ophthalmologist, e-mail: j_piatova@mail.ru

Khudonogov A.A. – candidate of medical sciences, assistant of the chair for ophthalmology

Shchuko A.G. – doctor of medical sciences, professor, director, head of the chair for ophthalmology

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ БИОМИКРОСКОПИЯ СФОРМИРОВАННЫХ ДРЕНАЖНЫХ ПУТЕЙ ОТТОКА ПОСЛЕ ОПЕРАЦИЙ НЕПЕРФОРИРУЮЩЕГО ТИПА С ПРИМЕНЕНИЕМ ДРЕНАЖНОГО ИМПЛАНТАТА

Элеонора Валентиновна ЕГОРОВА, Ирина Леонидовна ЕРЕМЕНКО,
Анна Владимировна ОПЛЕТИНА, Джульетта Григорьевна УЗУНЯН

ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России
127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, 59а

Цель исследования – изучение методом ультразвуковой биомикроскопии акустической морфологии структур дренажной системы, созданной операцией неперфолирующего типа при использовании имплантата Healaflo в ходе микроинвазивной непроникающей глубокой склерэктомии (МНГСЭ). Материал и методы. В исследование включены 92 пациента (94 глаза) с первичной открытоугольной глаукомой. Общепринятые методы исследования были дополнены ультразвуковой биомикроскопией. Результаты и обсуждение. Исследование зон операции МНГСЭ методом ультразвуковой биомикроскопии показало, что субстанция Healaflo способствует сохранности структур дренажной системы, созданных операциями.

Ключевые слова: дренажная система, имплантат, неперфолирующая операция, ультразвуковая биомикроскопия.

Внедрение операций непроникающего типа, предложенных в 1984 году, С.Н. Федоровым и В.И. Козловым позволило реализовать идею эффективного снижения внутриглазного давления хирургическим путем, а также определило тенденцию к более раннему выбору оперативного лечения [1–9, 11, 17, 18]. Однако отсутствие клинически диагностируемых осложнений не исключает случаев снижения гипотензивного эффекта операции со временем, что, по мнению ряда офтальмологов, обусловлено развитием пролиферативного процесса в структурах дренажных путей с формированием зон ретенции [2–11, 14, 18–20]. Проллиферативные процессы, приводящие к рубцовым изменениям структур дренажной системы, созданной хирургическими вмешательствами при глаукоме, определяют основные патогенетические механизмы послеоперационной гипертензии [4–6].

С целью повышения стабильности гипотензивного эффекта в последнее время широко применяются различные имплантаты (дренажи, клапаны, шунты) из биологических тканей и синтетических материалов, способствующие формированию дренажных путей оттока и пре-

пятствующим развитию избыточного рубцевания, благодаря чему происходит стабилизация офтальмотонуса [2–5, 7, 15, 17–20]. Предшествующими исследованиями была доказана высокая информативность метода ультразвуковой биомикроскопии (УБМ) для выявления доклинических признаков активации пролиферативного процесса в структурах дренажной системы [9, 12, 13, 16]. Для оптимизации функционирования дренажных путей в числе прочих используется имплантат Healaflo («Anteis», Швейцария), представляющий собой стерильный и готовый к использованию гель. Прозрачная, относительно плотная консистенция геля позволяет моделировать его количественные и объемные параметры и использовать в качестве наполнителя субконъюнктивального и интрасклерального пространств с сохранностью во времени их объема.

Цель настоящего исследования – изучение с помощью УБМ акустической морфологии структур дренажной системы, созданной операцией неперфолирующего типа при использовании имплантата Healaflo в ходе микроинвазивной непроникающей глубокой склерэктомии (МНГСЭ).

Егорова Э.В. – заслуженный деятель науки РФ, проф., зав. отделом хирургического лечения глаукомы

Еременко И.Л. – очный аспирант, e-mail: eil-86@mail.ru

Оплетина А.В. – очный аспирант

Узунян Д.Г. – врач-офтальмолог, зав. кабинетом клиничко-функциональной диагностики

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 92 пациента (94 глаза) с начальной и развитой стадиями первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ), в том числе 35 мужчин и 57 женщин в возрасте от 42 до 76 лет ($64,3 \pm 1,7$ года). В основную группу отобраны 59 пациентов (61 глаз) с ПОУГ, которым была выполнена МНГСЭ с введением по 0,1 мл субстанции Healaflow в интрасклеральное и в субконъюнктивальное пространства, в группу сравнения – 33 пациента (33 глаза), аналогичных по возрасту и стадиям глаукомы, после выполнения МНГСЭ без использования имплантата. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Общепринятые методы исследования, которые включали визометрию, тонометрию, периметрию, офтальмометрию, гониоскопию, были дополнены ультразвуковой биомикроскопией на аппарате «SONOMED» (США), выполнявшейся в сроки 1, 7 дни; 1, 3, 6, 9 месяцев после операции. Морфометрически измеряли параметры созданных операций основных структур дренажной системы, включая высоту и акустическую плотность фильтрационной подушки (ФП), толщину и акустическую плотность склерального лоскута (СЛ), высоту и акустическую плотность интрасклеральной полости (ИСП), толщину и акустическую плотность трабекуло-десцеметовой мембраны (ТДМ). Внутриглазное давление перед операцией составляло $26,1 \pm 6,2$ мм рт. ст. при использовании комбинации гипотензивных препаратов (тимолол 0,5 % по 1 капле 2 раза в день, аэпт 1 % по 1 капле 2 раза в день).

Хирургическое вмешательство проводилось по технологии МНГСЭ, предложенной Х.П. Тахчиди с соавт. [8]. На завершающих этапах операции пациентам основной группы в интрасклеральное ложе и в субконъюнктивальное

пространство вводили 0,1 мл Healaflow, данная субстанция сохраняла свою форму в виде плоского овала $d = 0,3$ мм. Далее проводили герметизацию раны путем наложения одного узлового шва на конъюнктиву (10-0). Операцию завершали инъекцией под конъюнктиву раствора дексазона и антибиотика. Больных осматривали в 1, 3, 7, 14 дни; 1, 3, 6, 9 месяцев с применением общеклинических и дополнительных методик.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднеквадратичное отклонение (SD), и представляли в виде $M \pm SD$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В раннем послеоперационном периоде клинически признаков воспалительной реакции отмечено не было: роговица сохраняла свою прозрачность, передняя камера была равномерной глубины от 2,8–3,0 мм, без тенденции к измельчению, сохранялась диафрагмальная функция радужной оболочки. Во всех случаях имела место разлитая ФП размером 6×12 мм с легкой пастозностью и проминенцией до 2,0 мм в центре. В последующие сроки отмечалось некоторое уплощение с проминенцией не более 1,5 мм без инкапсуляции. Тонметрическое внутриглазное давление в 1 день после операции составило $7,2 \pm 0,3$ мм рт. ст. с последующим плавным повышением к 9 месяцам до $17,0 \pm 0,4$ мм рт. ст. без гипотензивной терапии.

При исследовании УБМ в первые сутки после операции на всех глазах пациентов обеих групп определялась ФП (таблица), высота которой в одном случае (1-я операция) достигала 1,8 мм. ФП имела мелкоячеистую структуру низкой акустической плотности (30–50 %) с отдельными микрополостями. СЛ был неравномерно гидратирован

Таблица

Динамика УБМ-параметров в различные сроки после операции

Параметр	1 мес.		3 мес.		6 мес.		9 мес.	
	МНГСЭ + Healaflow	МНГСЭ	МНГСЭ + Healaflow	МНГСЭ	МНГСЭ + Healaflow	МНГСЭ	МНГСЭ + Healaflow	МНГСЭ
ФП	0,98±0,03*	1,00±0,03	1,18±0,04*	0,98±0,03	1,18±0,04*	0,59±0,05	1,15±0,02*	0,55±0,05
СЛ	0,28±0,004	0,29±0,003	0,39±0,004	0,28±0,003	0,39±0,004	0,28±0,003	0,39±0,004	0,28±0,003
ИСП	0,59±0,03*	0,39±0,07	0,69±0,03*	0,39±0,07	0,69±0,03*	0,35±0,07	0,69±0,03*	0,33±0,07
ТДМ	0,06±0,002	0,06±0,002	0,07±0,002	0,07±0,002	0,07±0,002	0,09±0,001	0,08±0,002	0,09±0,001

* Отличие от величины соответствующего показателя группы сравнения статистически значимо при $p < 0,01$.

с оптической плотностью 40–50 %, его толщина составила $0,27 \pm 0,004$ мм. ИСП на всех глазах представляла собой акустически негативное пространство без включений в виде неправильного овала высотой от 0,37 до 0,67 мм ($0,59 \pm 0,02$ мм). Ширина ТДМ составляла в среднем 0,82 мм, ее толщина находилась в диапазоне 0,05–0,09 мм (в среднем 0,07 мм), акустическая плотность составляла 30–50 %. После первой операции отмечена проминенция ТДМ в переднюю камеру при высоте ИСП 0,67 мм.

К 7–14 дню после операции созданные ею структуры дренажной системы сохраняли те же параметры у пациентов обеих групп. У пациентов основной группы между ФП и СЛ просматривалась оптически негативная полость в виде узкой щели с шириной до 0,1 мм без включений.

При исследовании УБМ через 1 месяц после операции в основной группе отмечено сохранение таких параметров, как высота ФП, которая достоверно ($p \leq 0,01$) отличалась от группы сравнения. Содержимое ФП сохраняло выраженную гипозоногенность с колебаниями акустической плотности от 20–45 %, без микрополостей. Толщина СЛ не имела достоверных различий в сравниваемых группах, составив в среднем $0,28 \pm 0,09$ мм. Обращала на себя внимание его высокая акустическая плотность, которая была неоднородной в пределах 70–90 % в основной группе при 60–90 % в группе сравнения. ИСП в основной группе характеризовалась сохранением исходной величины, достоверно ($p \leq 0,01$) отличаясь от сравниваемой группы. Толщина ТДМ также не изменялась (см. таблицу).

Аналогично более ранним срокам, к 3 месяцам ФП четко визуализировалась на всех глазах. В основной группе отмечена тенденция увеличения таких параметров, как высота ФП, ее содержимое сохраняло выраженную гипозоногенность с колебаниями акустической плотности от 20–40 %, без микрополостей. Отмечена сохранность оптически негативной щели между ФП и СЛ до 0,05 мм у пациентов с имплантацией Healaflo. Толщина СЛ увеличилась, плотность его сохраняла неравномерную гипозоногенность 50–70 %, границы четко визуализировались. У всех пациентов основной группы отмечено формирование гипозоногенного тоннеля, выходящего из-под СЛ и соединяющего ИСП с субконъюнктивальным пространством. Высота ИСП у пациентов 1-й группы несколько увеличилась по сравнению с более ранними сроками, интерфейс приобрел четкий контур. У пациентов 2-й группы параметры ИСП и ТДМ не изменились. Ширина ТДМ составляла 0,81 мм, толщина осталась прежней. Акустическая плотность мембраны оставалась

стабильной, составляя 30–50 %. Во всех случаях ТДМ имела прямой профиль без проминенции (см. таблицу).

На фоне сохраненного гипотензивного эффекта после МНГСЭ в группе, где операция сопровождалась имплантацией субстанции Healaflo, через 6 месяцев отмечено сохранение объемных параметров в структурах сформированных дренажных путей глаза, в то же время в группе сравнения МНГСЭ без имплантации дренажа произошли достоверные изменения: почти вдвое сократилась высота ФП, структура ее становилась более плотной за счет акустически гетерогенных включений; отмечено достоверное уменьшение высоты ИСП с появлением внутриполостных включений в дистальных отделах. ТДМ сохраняла тенденцию к повышению толщины (см. таблицу).

К 9 месяцам наблюдения после МНГСЭ с имплантацией дренажа Healaflo обращала на себя внимание сохранность ячеистой структуры ФП с сохранением ее высоты. Акустически негативная щель между ФП и СЛ фрагментирована в виде отдельных островков. Границы СЛ оставались четкими, гипозоногенность СЛ находилась в пределах 60–70 %, в то время как в группе сравнения акустическая плотность его возросла до 60–80 %. ИСП имела четкий интерфейс. При сохранении тонкой ТДМ в ряде случаев отмечались наложения точечных включений, которые были аналогичны таковым при псевдоэкзофалиативном синдроме. Отмечалась четкая визуализация тоннелей, соединяющих ИСП с ФП низкой акустической плотности без включений в их просвете. Акустическая картина в группе без имплантации субстанции Healaflo характеризовалась постепенным уменьшением объемных параметров (ФП и ИСП) и появлением включений на всех структурах дренажной системы. Гетерогенные включения имели место в ФП, хотя ячеистая структура ее сохранялась, увеличилась акустическая плотность СЛ до 70–80 %. Отмечались более выраженные наложения точечных включений на ТДМ (см. таблицу).

ОБСУЖДЕНИЕ

С внедрением малоинвазивных офтальмохирургических вмешательств неперфорирующего типа (МНГСЭ) при ПОУГ наметилась тенденция к существенному сокращению частоты осложнений как в ходе операции, так и в послеоперационном периоде. Тем не менее эффективность антиглаукоматозной операции может снижаться из-за развития пролиферативного процесса в структурах дренажной системы, который приводит к

снижению дренажной функции ТДМ с последующим нарушением компенсации офтальмотонуса. Использование различных дренажных имплантатов предусматривает сохранность топографии созданных операцией путей оттока внутриглазной влаги. Данное обстоятельство объясняет актуальность поиска новых материалов дренажей на этапе МНГСЭ в лечении ПОУГ [1–4, 7, 15, 17–19].

Анализ репаративных процессов в дренажной системе, созданной МНГСЭ, проведен с использованием высокоинформативного метода УБМ, позволяющей в режиме реального времени объективно исследовать морфологические изменения структур дренажной системы глаза [9, 10, 12, 16]. Ранее показано, что послеоперационный период характеризуется тенденцией к уменьшению объемных параметров ФП и ИСП с течением времени, с относительно большим диапазоном их колебаний, при этом ТДМ сохраняет свои параметры по толщине и ширине [9].

Результаты проведенных исследований позволили отметить определенные свойства используемой композиции Healaflo, а именно сохранность пространств между ФП и СЛ в виде оптически негативной щели. Наличие мелкоячеистой структуры ФП в течение всего периода наблюдения отражало активную переднюю фильтрацию внутриглазной влаги. В сроки от 1 до 6 месяцев отмечена сохранность объема ИСП с незначительным диапазоном колебаний ее высоты и отсутствием включений, что было обусловлено присутствием субстанции Healaflo, которая препятствовала уменьшению объема ИСП и способствовала раннему формированию интрасклеральных тоннелей. В дальнейшие сроки наблюдения (9 месяцев) акустическая симптоматика отражала полное формирование и функциональность экстра- и интрасклеральных путей оттока с хорошей визуализацией гипозоженных тоннелей, соединяющих ИСП с ФП. Обращала на себя внимание ареактивность субстанции Healaflo, что проявлялось гипозоженностью структур и отсутствием признаков активного пролиферативного процесса, в то время как в группе сравнения отмечено уменьшение объемных параметров структур дренажной системы и появление включений даже при компенсации офтальмотонуса.

ВЫВОДЫ

1. Использование композиции Healaflo не выявило акустических признаков активации пролиферативного процесса и способствовало активной передней фильтрации в сторону ФП с форми-

рованием эписклеральных и интрасклеральных путей оттока внутриглазной влаги.

2. Отмечена длительная сохранность композиции Healaflo в структурах дренажной системы, препятствующая формированию зон ретенции.

3. Методом УБМ выявлены основные закономерности формирования дренажных путей после МНГСЭ с имплантацией субстанции Healaflo.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балашевич Л.И., Науменко В.И., Белова Л.В. Непроницающая глубокая склерэктомия с интрасклеральным микродренированием в хирургическом лечении больных первичной открытоугольной глаукомой: учебное пособие. СПб., 2000. 12 с.

2. Захидов А.Б. Комбинированное хирургическое лечение первичной открытоугольной глаукомы с локальной иммунокоррекцией репаративных процессов: автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 2010.

3. Зенина М.Л. Применение дренажа из сополимера коллагена в хирургическом лечении открытоугольной глаукомы: автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 2001.

4. Иванова Е.С. Профилактика избыточных репаративных процессов при проведении антиглаукоматозных операций: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1999.

5. Козлов В.И., Багров С.Н., Анисимова С.Ю. и др. Непроницающая глубокая склерэктомия с коллагенопластикой // Офтальмохирургия. 1990. (3). 44–46.

6. Козлов В.И., Козлова Е.Е., Соколовская Т.В., Сидорова А.В. Причины повышения внутриглазного давления в ближайшие и отдаленные сроки после непроницающей глубокой склерэктомии в хирургии открытоугольной глаукомы // Перспективные направления в хирургическом лечении глаукомы: сб. науч. тр. М., 1997. 50–53.

7. Лебедев О.И. Концепция избыточного рубцевания после антиглаукоматозных операций // Вестн. офтальмол. 1993. (1). 36–39.

8. Тахчиди Х.П., Иванов Д.И., Стренев Н.В. Современные технологии хирургии первичной глаукомы // 2-я Евро-Азиатская конф. по офтальмохирургии. Екатеринбург, 2001. Ч. 1. 136–137.

9. Тахчиди Х.П., Егорова Э.В., Узунян Д.Г. Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии переднего сегмента глаза. М., 2008. 67–76.

10. Фаражеева Э.В., Егорова Э.В., Узунян Д.Г. Ультразвуковая биомикроскопия сформированных дренажных путей оттока после операций неперформирующего типа у пациентов с исходно высоким ВГД // Офтальмохирургия. 2012. (4). 61–67.

11. Федоров С.Н., Козлов В.И., Тимошкина Н.Т. и др. Непроницающая глубокая склерэктомия при

открытоугольной глаукоме // Офтальмохирургия. 1989. (3–4). 52–55.

12. Ходжаев Н.С., Узунян Д.Г. Исследования морфологических структур фильтрующей зоны после непроникающей глубокой склерэктомии методом ультразвуковой биомикроскопии // Инновационные технологии медицины 21 века. Медицинские компьютерные технологии: Всерос. науч. форум: М., 2005. 535–537.

13. Dohan E., Drusedau M. Non-penetrating filtration surgery for glaucoma: control by surgery only // J. Cataract Refract. Surg. 2000. 26. (5). 695–701.

14. Goldmann H. Summary of Cambridge ophthalmological symposium // Br. J. Ophthalmol. 1972. 56. 306–308.

15. Goldsmith J.A., Ahmed I.K., Crandall A.S. Non-penetrating glaucoma surgery // Ophthalmol. Clin. North. Am. 2005. 18. (3). 443–460.

16. Marchini G., Marraffa M., Brunelli C. et al. Ultrasound biomicroscopy and intraocular-pressure-lowering mechanisms of deep sclerectomy with reticulated hyaluronic acid implant // J. Cataract Refract. Surg. 2001. 27. (4). 507–517.

17. Mermoud A. Non-penetrating glaucoma surgery. N. Y., 2001. 193 p.

18. Netland P.A. Nonpenetrating glaucoma surgery // Ophthalmology. 2001. 1. (2). 416–421.

19. Roy S., Thi H., Mermoud A. Crosslinked sodium hyaluronate implant in deep sclerectomy for the surgical treatment of glaucoma // Eur. J. Ophthalmol. 2012. 22. (1). 70–76.

20. Stürmer J., Mermoud A., Sunaric Mégevan G. Trabeculectomy with mitomycin C supplemented with cross-linking hyaluronic acid: a pilot study // Klin. Mondl. Augenheilkd. 2010. 227. (4). 273–276.

ULTRASOUND BIOMICROSCOPY OF THE FORMED DRAINAGE OUTFLOW PATHWAYS AFTER MICROINVAZIVE NON-PENETRATING DEEP SCLEROTOMY WITH IMPLANT

Eleonora Valentinovna EGOROVA, Irina Leonidovna EREMENKO, Anna Vladimirovna OPLETINA, Julietta Grigorevna UZUNYAN

*The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
127486, Moscow, Beskudnikovsky Boulevard, 59A*

Purpose: to study the acoustic morphology of the drainage system structures after microinvasive non-penetrating deep sclerotomy with implant Healaflow by ultrasound biomicroscopy. Materials and methods. The clinical analysis was performed on 92 patients (94 eyes) with primary angle-open glaucoma (PAOG). The standard investigation methods were supplemented with the ultrasound biomicroscopy. Results. The research of PAOG operation areas by the method of ultrasound biomicroscopy showed that the Healaflow substance helps maintain the structure of the drainage system set up during surgery.

Key words: drainage system, implant, non-penetrating operation, ultrasound biomicroscopy.

Egorova E.V. – honored scientist of the RF, professor; head of department of glaucoma surgery

Eremenko I.L. – postgraduate student, e-mail: eil-86@mail.ru

Opletina A.V. – postgraduate student

Uzunyan D.G. – ophthalmologist, head of the clinical and functional diagnostics room

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ УВЕИТАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Галина Исааковна КРИЧЕВСКАЯ, Владимир Эдуардович ТАНКОВСКИЙ,
Галина Анатольевна ДАВЫДОВА

ФГБУ Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России
105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19

Цель исследования – изучить системную продукцию цитокинов при генерализованных увеитах, ассоциированных с хроническими инфекциями. Материал и методы. В сыворотках крови 26 пациентов определяли содержание 11 цитокинов, а также антител к герпес-вирусам и токсоплазме гондии. РЕЗУЛЬТАТЫ. В целом отмечена тенденция к умеренному повышению уровня ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ и хемокина ИЛ-8 в отличие от ИЛ-4 и ИЛ-10. Заключение. При генерализованных увеитах, ассоциированных с хроническими герпес-вирусными и токсоплазмозной инфекциями, выявлено системное повышение концентрации провоспалительных цитокинов и отсутствие изменения содержания противовоспалительных цитокинов. У пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией достоверно повышен уровень ФНО- α и снижена продукция ИЛ-4 по сравнению с группой больных, инфицированных только герпес-вирусами.

Ключевые слова: генерализованные увеиты, цитокины, герпес-вирусы, *Toxoplasma gondii*.

Увеиты – гетерогенная по этиологии, патогенезу и локализации воспалительная патология сосудистого тракта глаз. Многочисленные инфекции играют важную роль в сложной этиопатогенетической структуре увеитов. Выделяют инфекционные увеиты, вызванные микроорганизмами, попавшими во внутренние среды глаза, и увеиты, протекающие на фоне экстраокулярно перистистирующих инфекций. Показано, что в патогенезе инфекционных и ассоциированных с инфекциями увеитов большую роль играют иммуноопосредованные механизмы, индуцированные интра- или экстраокулярно локализованным возбудителем. В частности, установлено, что при герпес-вирусных острых увеаретинитах гибель клеток обусловлена как цитолитическим действием вируса, так и их иммуноопосредованным лизисом [16]. Получены также данные, подтверждающие способность некоторых персистирующих возбудителей индуцировать в инфицированном организме хроническое иммунное воспаление [11].

Развитие и исходы иммуноопосредованных заболеваний во многом определяются основными регуляторными молекулами – цитокинами. Неоднократно предпринимались попытки установить отличительные особенности цитокино-

вого профиля, характерные для инфекционных и неинфекционных увеитов, а также влияние разных микроорганизмов на спектр продуцируемых цитокинов. Полученные результаты достаточно разноречивы, что связано с многообразием клинических форм увеитов, особенностями проводимой противовоспалительной терапии, а также генетическими особенностями пациента и штамма возбудителя [1–3, 5, 10, 14, 15].

Генерализованные увеиты (ГУ) (панувеиты) – одна из наиболее тяжелых клинических форм заболевания, при которой в воспалительный процесс вовлекается практически весь сосудистый тракт. Как и во всей популяции, среди пациентов с ГУ широко распространены хронические инфекции, в первую очередь герпес-вирусные и токсоплазмозная [4]. Цель настоящего исследования – определить характер системной продукции цитокинов при ГУ, протекающих на фоне сочетанной герпес-токсоплазмозной инфекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

26 пациентов с ГУ неясной этиологии в возрасте от 18 до 77 лет (средний возраст 41,5 года), в том числе 15 женщин и 11 мужчин, наблюдались в ФГБУ Московский НИИ глазных болезней

Кричевская Г.И. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии,
e-mail: gkri@yandex.ru

Танковский В.Э. – д.м.н., старший научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва
Давыдова Г.А. – к.м.н., врач-офтальмолог отдела патологии сетчатки и зрительного нерва

им. Гельмгольца на протяжении 2011–2013 гг. Заболевание одного глаза диагностировано у 19 (73 %), двух – у 7 (27 %) пациентов. Лабораторное обследование проводили в активный или субактивный период увеита: 12 пациентам однократно, 14 пациентам от 2 до 5 раз при рецидивах заболевания.

Серодиагностика инфекций включала исследование в сыворотках крови содержания IgM- и IgG-антител к вирусам герпеса человека (ВГЧ): к вирусу простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ1, ВПГ2), к цитомегаловирусу (ЦМВ), к вирусу Эпштейна – Барр (ВЭБ) и к *Toxoplasma gondii*. IgG-антитела к поздним (структурным) антигенам герпес-вирусов рассматривали как маркеры хронической инфекции, IgG-антитела к ранним (неструктурным) антигенам ВПГ1 и ВПГ2, IgG-антитела к предраннему антигену ЦМВ – как серологические маркеры реактивации вирусов. Стадию ВЭБ-инфекции определяли по результатам выявления антител к ядерному, раннему и капсидному антигенам вируса в соответствии с критериями производителя тест-систем. IgG-антитела к *Toxoplasma gondii* отражали хроническое инфицирование. В тех же пробах сывороток определяли концентрацию цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-18, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ . Все параметры оценивали с помощью ИФА с коммерческими наборами ЗАО «Вектор-Бест» и БТК «Биосервис» (Россия). В качестве контрольных использовали результаты обследования условно здоровых лиц, полученные в лаборатории иммунологии и вирусологии института О.С. Слеповой и соавт. [2] и производителем тест-систем «Вектор-Бест».

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднее квадратическое отклонение (SD), и представляли в виде $M \pm SD$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пациентов в сыворотках крови выявляли ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФНО- α , ИНФ- α . ИНФ- γ обнаружен у 88 % больных (92 % проб) (табл. 1). ИЛ-1 β , один из ведущих провоспалительных цитокинов, продуцировался только у трети обследованных пациентов с ГУ в невысокой концентрации (на уровне контрольной группы), что частично можно объяснить преобладанием у них односторонних увеитов (увеличение продукции ИЛ-1 β отмечено при двусторонних процессах [1]). ИЛ-17, которому придают важное значение в патогенезе токсоплазмозных увеитов [13], обнаружен только у половины пациентов, уровень его также был невысоким. Противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10 выявлялись реже провоспалительных.

В целом у пациентов с ГУ отмечена тенденция к умеренному повышению в крови уровней провоспалительных и противоинфекционных цитокинов: ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ и хемокина ИЛ-8, по сравнению с контрольной группой (см. табл. 1). Усиление продукции ИЛ-2, ИНФ- γ , ФНО- α в острый период как инфекционных, так и неинфекционных увеитов отмечают многие авторы [1, 2, 5, 7, 9, 10, 14]. Системно-

Таблица 1

Частота выявления и содержание цитокинов в сыворотке крови пациентов с ГУ

Цитокин	Число больных/ число проб	Цитокин выявлен, n (%)		Содержание цитокина, пг/мл, $M \pm SD$ (диапазон)	
		Число больных	Число проб	Пациенты с ГУ	Контроль
ИЛ-1 β	25/45	8 (32)	10 (22)	$1,49 \pm 1,6$ (0,09–2,63)	1,6 (0–11)
ИЛ-2	13/27	13 (100)	27 (100)	$1,7 \pm 0,82$ (0,15–3,44)	0,3 (0–10)
ИЛ-4	21/38	14 (66,6)	20 (52,6)	$0,45 \pm 0,24$ (0,06–5,33)	0,2 (0–4)
ИЛ-6	12/24	12 (100)	24 (100)	$4,2 \pm 4,5$ (0,25–22,0)	2 (0–10)
ИЛ-8	9/16	9 (100)	16 (100)	$16,9 \pm 25,1$ (3,0–100,3)	2 (0–10)
ИЛ-10	26/44	12 (46)	15 (34)	$4,52 \pm 6,3$ (0,51–25,3)	5 (0–20)
ИЛ-17	14/25	7 (50)	9 (36)	$1,01 \pm 0,67$	
ИЛ-18	14/28	14 (100)	28 (100)	316 ± 184 (48–990)	364 (104–640)
ФНО- α	13/23	13 (100)	23 (100)	$5,3 \pm 1,47$ (1,1–6,96)	0,5 (0–6)
ИНФ- α	13/23	13 (100)	23 (100)	$15,6 \pm 3,8$ (10,0–18,9)	(0–5)
ИНФ- γ	9/13	8 (88,9)	12 (92)	$6,45 \pm 5,4$ (1,4–18,0)	2 (0–10)

му и локальному синтезу ИЛ-8 придают важное значение в развитии внутриглазного воспаления, в частности ангиогенеза [7, 8]. В обследованной нами группе больных с ГУ ИЛ-8 определялся в сыворотке крови у больных как с наличием новообразованных сосудов в разных оболочках глаза, так и без признаков неоангиогенеза. Повышения концентрации ИЛ-18, который по современным представлениям играет важную роль в патогенезе инфекционных и аутоиммунных заболеваний, мы не обнаружили.

Выявленные изменения содержания цитокинов отражают развитие иммунного ответа, опосредованного преимущественно Т-хелперами 1 типа и активированными макрофагами. Возможно, это обусловлено тем, что больные были обследованы в основном в активный период заболевания.

Противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10 выявлялись у пациентов с ГУ реже, чем провоспалительные. Содержание ИЛ-4 не превышало показатели контрольной группы, что согласуется с литературными данными [1, 10]. Ряд исследователей, в отличие от нас, обнаружили существенное увеличение системной продукции ИЛ-10 при увеитах (локализация не уточняется) на фоне низких концентраций ИЛ-4 [10]. Своевременной адекватной продукции противовоспалительных цитокинов придают важное значение в успешном выздоровлении от ряда вирусных инфекций, в частности респираторных.

Отличия цитокинового профиля пациентов с увеитами, обнаруженные разными авторами, объясняются многими причинами: активностью, тяжестью и длительностью заболевания, характером проводимой терапии, использованием тест-систем разного производства. Немаловажное значение имеет, по-видимому, и локализация воспаления.

Мы сопоставили собственные данные с результатами обследования пациентов с передними увеитами (ПУ), полученными с использованием тех же диагностических наборов [3]. По сравнению с ПУ при ГУ отмечено существенное понижение системной продукции ИЛ-1 β в 8,5 раза, ИЛ-4 в 13,2 раза, ИЛ-6 в 9,4 раза, ФНО- α в 2,8 раза, ИНФ- γ в 2,3 раза при менее выраженном, особенно в сравнении с тяжелыми формами ПУ [2, 3], увеличении содержания ИНФ- α в 2,2 раза. Выявленные различия могут быть обусловлены разными причинами, в первую очередь – более интенсивной системной кортикостероидной терапией, назначаемой при ГУ, а также различиями в этиопатогенезе увеитов разной локализации.

Учитывая полученные нами ранее данные о влиянии хронических инфекций на клинические

проявления увеитов [4], мы проанализировали характер системной продукции цитокинов у пациентов с ГУ в зависимости от особенностей инфекционного статуса.

Серологический анализ показал, что все пациенты были хронически инфицированы герпес-вирусами (ВГЧ): IgG-антитела к ВПГ и ВЭБ выявлены у 100 %, к ЦМВ – у 96 % (25 из 26) обследованных. Серологические маркеры реактивации ВПГ 1 типа отмечены у 15 (57,7 %), ВПГ 2 типа – у 10 (38,5 %), ЦМВ – у 6 из 26 (23,1 %) больных. У 6 пациентов выявлена одновременная реактивация ВПГ 1 и ВПГ 2 типа. Реактивация только ЦМВ наблюдалась у 2 пациентов, у 4 в сочетании с ВПГ 1 и/или ВПГ 2 типа. В целом серологические маркеры реактивации ВПГ и/или ЦМВ обнаружены у 18 из 26 (69 %) больных. Среди обследованных нами пациентов реактивации ВЭБ не диагностировано. Хроническая токсоплазмозная инфекция (IgG-антитела) обнаружена у 16 из 26 (61,5 %) пациентов, IgM-специфические антитела не определялись. По нашим данным, реактивация хронической токсоплазмозной инфекции при заболеваниях глаз редко сопровождается продукцией IgM-антител, что затрудняет серологическую диагностику активизации этой инфекции.

По результатам серологического исследования выделили 2 группы больных: 1-я группа – пациенты с наличием смешанной герпес-токсоплазмозной инфекции, 2-я группа – пациенты, инфицированные только ВГЧ и серонегативные по токсоплазме.

В каждой группе выявлены большие индивидуальные колебания в содержании цитокинов, однако можно отметить некоторые тенденции (табл. 2). У пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией средний уровень ФНО- α был достоверно выше, чем у больных, инфицированных только ВГЧ ($p = 0,003$), хотя в целом содержание его было невысоким. Отмечено также незначительное повышение концентрации ИНФ- γ в группе пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией ($p > 0,05$). Клинические и экспериментальные исследования свидетельствуют о важной роли ИНФ- γ и ФНО- α в контроле за ограничением размножения токсоплазмы. При экспериментальном токсоплазмозе мышей увеличение уровня ИНФ- γ в ранние сроки после инфицирования способствовало более быстрому купированию активной инфекции и уменьшало риск развития энцефалита [6, 7, 12].

У пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией в 1,5 раза снижалась частота выявления противовоспалительного цитокина ИЛ-4 ($p > 0,05$) и достоверно уменьшалась его

Таблица 2

Сравнительный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови пациентов с ГУ, ассоциированными с герпес-вирусными и токсоплазмозной инфекциями

Цитокин	Смешанная герпес-токсоплазмозная инфекция		Герпес-вирусная инфекция	
	Частота выявления, %	$M \pm SD$, пг/мл	Частота выявления, %	$M \pm SD$, пг/мл
ИЛ-1 β	13,8	0,88 \pm 1,16	31,3	0,58 \pm 0,54
ИЛ-2	100	1,73 \pm 0,77	100	1,7 \pm 0,99
ИЛ-4	40	0,28 \pm 0,11	77	1,23 \pm 1,16*
ИЛ-6	100	4,89 \pm 5,28	100	2,95 \pm 2,27
ИЛ-8	100	8,37 \pm 3,37	100	22,97 \pm 26,4
ИЛ-10	32,1	6,18 \pm 7,8	37,5	2,03 \pm 0,96
ИЛ-17	40	1,15 \pm 0,67	20	1,09 \pm 0,5
ИЛ-18	100	274,6 \pm 80,4	100	404,4 \pm 296,4
ФНО- α	100	5,93 \pm 0,49	100	4,14 \pm 1,97*
ИНФ- α	100	16,3 \pm 4,2	100	14,3 \pm 2,7
ИНФ- γ	89	8,45 \pm 5,6	100	2,4 \pm 1,3

* Отличие от величины соответствующего показателя у пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией статистически значимо при $p < 0,05$.

концентрация ($p = 0,019$). У пациентов, инфицированных ВГЧ и серонегативных по токсоплазмозу, содержание ИЛ-8 было выше, чем у больных 2-й группы при выраженных колебаниях индивидуальных показателей. Достоверных различий в продукции ИЛ-10 в обследуемых группах не обнаружено (см. табл. 2).

В группу пациентов со смешанной герпес-токсоплазмозной инфекцией входили больные с наличием серологических маркеров реактивации ВГЧ и без них. При смешанной герпес-токсоплазмозной инфекции у пациентов без серологических маркеров реактивации ВГЧ по сравнению с больными признаками активности герпес-вирусов был несколько ниже уровень ИЛ-17 ($p > 0,05$) и ФНО- α ($p > 0,05$), ни в одной из 11 проб не выявлялся ИЛ-1 β , а при наличии антител к ранним вирусным антигенам ИЛ-1 β обнаружен у четверти обследованных. По концентрации ИНФ- γ данные подгруппы пациентов не различались. Однако четкого влияния реактивации герпес-вирусов на системную продукцию цитокинов установить не удалось, возможно, из-за недостаточного числа наблюдений.

Таким образом, в целом у пациентов с ГУ, ассоциированными с хроническими герпестическими и токсоплазмозной инфекциями, отмечено системное повышение продукции провоспалительных и противоинфекционных цитокинов и сохранение содержания противовоспалительных цитокинов на уровне величин, характерных для здоровых лиц. Этот дисбаланс усиливался у па-

циентов с сочетанной герпес-токсоплазмозной инфекцией, в отличие от больных, инфицированных только герпес-вирусами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бьковская Г.Н. Значение иммунологических факторов в патогенезе двусторонних и односторонних увеитов: автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 2000.
2. Вахова Е.С., Слепова О.С., Миронкова Е.С. Особенности интерферонового статуса у больных с передними увеитами и кератоувеитами различной степени тяжести // Рос. офтальмологич. журн. 2012. (3). 81–85.
3. Зайнутдинова Г.Х. Иммуногормональные нарушения при острых передних увеитах, значение для прогноза и терапии: автореф. дис. ...докт. мед. наук. Уфа, 2012.
4. Кричевская Г.И., Анджелов В.О., Катаргина Л.А., Майчук Ю.Ф. Диагностика и значение оппортунистических герпес-вирусных инфекций в этиопатогенезе различных заболеваний глаз // Вестн. РАМН. 2003. (5). 21–23.
5. Слепова О.С. Патогенетическая роль цитокинов при различных заболеваниях глаз как основа для прогнозирования и выбора тактики иммунокорректирующего лечения // Рос. офтальмологич. журн. 2008. (3). 36–42.
6. Aviles H., Stiles J., O'Donnell P. et al. Kinetic of systemic cytokine and brain chemokine gene expression in murine toxoplasma infection // J. Parasitol. 2008. 94. (6). 1282–1288.

7. Czipiel J., Biesiada G., Sobczyk-Krupiarz I. et al. Interleukin 8 and interferon gamma in ocular toxoplasmosis // *Klin. Oczna.* 2011. 113. (4–6). 149–152.
8. Ghasemi H., Ghazanfari N., Yaraee R. Role of IL-8 in ocular inflammation: a review // *Ocul. Immunol. Inflamm.* 2011. 19. (6). 401–412.
9. Khera T.K., Dick A.D., Nicholson L.B. Mechanism of TNF- α regulation in uveitis: focus on RNA-binding proteins // *Prog. Retin. Eye. Res.* 2010. 29. (6). 610–621.
10. Lacombe M.S., Martin C.M., Chamond R.R. et al. Aqueous and serum interferon gamma, interleukin (IL) 2, IL-4, and IL-10 in patients with uveitis // *Arch. Ophthalmol.* 2000. 118. (6). 768–772.
11. Nasi M., Pinti M., Mussini C., Cossarizza A. Persistent inflammation in HIV infection: Established concepts, new perspectives // *Immunol. Lett.* 2014. pii: S0165-2478(14)00012-1.
12. Rey A., Molins B., Llorens V. et al. Cytokine profiling reveals decreased serum levels of CCL2 in active ocular toxoplasmosis // *Br. J. Ophthalmol.* 2013. 97. (10). 1338–1342.
13. Sauer A., Pfaff A.W., Villard O. et al. Interleukin 17A as a an effective target for anti-inflammatory and antiparasitic treatment of toxoplasmic uveitis // *J. Infect. Dis.* 2012. 206. (8). 1319–1329.
14. Takase H., Futagami Y., Yoshida T. et al. Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006. 47. (4). 1557–1561.
15. Vidovic Valentincic N., de Groot-Mines J.D.F., Kraut A. et al. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis // *Mol. Vis.* 2011. 17. 2003–2010.
16. Zeng M., Atherton S. Cytokine profile and inflammatory cells during HSV-1 induced acute retinal necrosis // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005. 46. (4). 1356–1363.

CHARACTERISTIC OF CYTOKINE STATUS IN PANUVEITIS ASSOCIATED WITH CHRONIC INFECTIONS

**Galina Isaakovna KRICHEVSKAYA, Vladimir Eduardovich TANKOVSKIY,
Galina Anatol'yevna DAVYDOVA**

*Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases
105062, Moscow, Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19*

Aim. To study the systemic production of cytokines in panuveitis associated with chronic infections. **Materials and methods.** 11 cytokines and antibodies to the human herpesviruses and *Toxoplasma gondii* were determined in blood serum of 26 patients. **Results.** In general a trend of moderate increasing of the systemic level of IL-2, IL-6, TNF- α IFN- α , IFN- γ and chemokine IL-8, unlike IL-4 and IL-10 was detected. **Conclusion.** The systemic increasing of pro-inflammatory and preservation of anti-inflammatory cytokines at the level of the control group were determined in panuveitis, associated with chronic herpetic and toxoplasmosis infections. The level of TNF- α was significantly increased in patients with herpesvirus-toxoplasma co-infection and IL-4 production was decreased in comparison with the group of patients infected with only herpesviruses.

Key words: panuveitis, cytokines, human herpesviruses, *Toxoplasma gondii*.

*Krichevskaya G.I. – candidate of medical sciences, leading researcher of laboratory of immunology and virology,
e-mail: gkri@yandex.ru*

Tankovskiy V.E. – doctor of medical sciences, senior researcher

Davydova G.A. – candidate of medical sciences, ophthalmologist