



**II Российский
форум с
международным
участием**

**Пролиферативный
синдром в биологии
и медицине**

29 – 30 ноября 2022 года

Материалы форума

ГЕМАЗА®

РЕКОМБИНАНТНАЯ
ПРОУРОКИНАЗА
ЧЕЛОВЕКА



Фибринолитический
препарат
для применения
в офтальмологии

Более 20 лет
широко используется
в клинической практике



Применяется в лечении различных
внутриглазных кровоизлияний,
тромбоза центральной вены сетчатки,
окклюзии центральной артерии сетчатки,
фибриноидного синдрома различного генеза



**ВНИМАНИЕ! ВАЖНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
для обоснования закупки профильными ЛПУ:**

Препарат включен в Клинические рекомендации по офтальмологии, разработанные Ассоциацией врачей-офтальмологов и в стандарты медицинской помощи в офтальмологии Минздрава России. Препарат включен в перечень Жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения (ЖНВЛП). Препарат включен под своим МНН: Проурокиназа.



ПРОИЗВЕДЕНО ПО ЛИЦЕНЗИИ ООО НПП «ТЕХНОГЕН»

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ: ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России.

121552, г. Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15А.

Тел./факс: (495) 414-69-82; 414-61-75; 414-62-92; 414-61-95.

Данная информация предназначена только для медицинских и фармацевтических работников.

II РОССИЙСКИЙ ФОРУМ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ СИНДРОМ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ»

(29-30 ноября 2022 года)

МАТЕРИАЛЫ ФОРУМА

**Пролиферативный синдром подобен Вселенной
биологического организма от зачатия до рождения
и далее – на всю жизнь живого существа,
от полета мысли человека– до реализации идей в
фундаментальных исследованиях,
от бесконечности возможностей – к точной реальности.**

Миляевы

Москва 2022

УДК 616.018.21-007.61(082)

**Пролиферативный синдром в биологии и медицине/ Материалы II
Российского форума с международным**

участием (29-30 ноября 2022 г., г. Москва)

ISBN 978-5-6049091-0-2



аудиторный, on line

В материалы II Российского форума с международным участием

«Пролиферативный синдром в биологии и медицине» вошли статьи участников форума, посвященные различным аспектам пролиферативного синдрома в биологии, иммунологии, гемостазиологии, а также фундаментальной и клинической медицины по специальностям офтальмология, инфекционные болезни, акушерство – гинекология.

Материалы адресованы практикующим врачам, исследователям, преподавателям и студентам медицинских учебных заведений.

УДК 616.018.21-007.61(082)

ISBN 978-5-6049091-0-2



Авторы,
текст, 2022
Издание

Тираж 1500

Организаторы:

- ✓ Министерство здравоохранения Российской Федерации
- ✓ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России (основной организатор)
- ✓ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» МЗ России (ФГБУ «НМИЦ им. Гельмгольца» МЗ России);
- ✓ ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН;
- ✓ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. М.С. Кирова» МО РФ;
- ✓ НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей;
- ✓ ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ;
- ✓ ФГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ»;
- ✓ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН;
- ✓ КАНННГ ЕНГ ДОНГ Университет, Южная Корея
- ✓ Казахский НИИ глазных болезней
- ✓ Информационный партнер video.organum-visus.ru

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ ПО ПОДГОТОВКЕ И ПРОВЕДЕНИЮ

РОССИЙСКОГО ФОРУМА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ СИНДРОМ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ»:

Председатели конференции:

Г.В.Порядин
Ж.М.Салмаси
Л.М.Балашова
Р.Л.Трояновский
О Хан До
В.В.Лазарев
И.Г.Панова
Т.С.Агаева
И.П.Хорошилова-Маслова

ФазлиАтауллакханов

С.Н.Щербо
А.А.Новиков
Е.В.Резник
Ю.А.Медведев
Н.М.Миляева
Е.В.Сибирская
Ю.В.Маркигантова
О.И.Кривошеина
Н.В.Матиния
А.У.Шарипова
И.И.Колесниченко
В.В.Рейтузов

Автор эмблемы конференции: В.А.Балашова-Никольская

Председатели оргкомитета

и ответственные редакторы

Л.М.Балашова
Ж.М.Салмаси

Рецензенты

С.А.Коротких
Е.В.Аронскинд

Члены оргкомитета:

Е.А.Черкашина
А.А.Рябцева
В.А.Рейтузов
Е.П. Кангаржи
Л.С.Коробова
Е.В.Кремкова
М.Е.Винер
И.А.Попов
С.Ю.Голубев
Т.В.Шелковникова
И.Е.Хаценко
Ю.Д.Кузнецова

ОГЛАВЛЕНИЕ

✓	БОРЬБА С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИЕЙ НА ЭТАПАХ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ВОЙНАХ XX–XXI вв. Рейгузов В.А., Трояновский Р.Л.	8
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		
✓	БИЛИРУБИН – БИЛИВЕРДИНОВАЯ СИСТЕМА И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАННЕГО РАЗВИТИЯ ГЛАЗА Панова И.Г., Татиколов А.С.	15
✓	МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИАЦИИ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ <i>luciferase</i> И ЗАЩИТЫ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОТСЛОЙКЕ СЕТЧАТКИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ У ХВОСТАТЫХ АМФИБИЙ Маркитантова Ю.В., Дашенкова Н.О., Труфанов С.К., Новикова Ю.П., Смирнский В.Н.	18
✓	СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ НЕОКИСЛЕННЫХ И ОКИСЛЕННЫХ БИСРЕТИНОИДОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ В КЛЕТКАХ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ Яковлева М.А., Островский Д.С., Хубецова М.Х., Борзенко С.А., Фельдман Т.Б., Островский М.А.	23
✓	ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ Серёгина Е.А., Лесовой С.В., Кузнецова Ю.Д., Полетаев А.В., Гришин В.Л., Вуймо Т.А., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Балашова Л.М.	30
✓	ПРИМЕНЕНИЕ ПОДХОДОВ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ И ГЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ У ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ВАСКУЛОПРОЛИФЕРАЦИЕЙ. Краткие положения по обзору. Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Винер М.Е.	38
✓	АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПРО- И АНТИАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С АКТИВНОЙ ФАЗОЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Лесовой С.В., Салмаси Ж.М., Винер М.Е.	43
✓	ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИКИ ГЛАЗНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Попов А.В., Кузнецова Ю.Д., Винер М.Е.	52
✓	К ВОПРОСУ ИНГИБИЦИИ И СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Бакунина Н.А., Лесовой С.А., Винер М.Е.	56
✓	ИССЛЕДОВАНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С РЕТИНОПАТИЕЙ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ Балашова Л.М., Лесовой С.В., Колесниченко И.И., Кузнецова Ю.Д., Кантаржи Е.П., Салмаси Ж.М.	71
✓	МУЛЬТИСЕНСОРНАЯ ИНВЕРСИОННАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ при исследовании плазмы крови и жидкости передней камеры глаза у доношенных детей с врожденной офтальмопатологией - катарактой и глаукомой - с учетом уровней Т-регуляторных клеток CD4 ⁺ CD25 ^{high} Foxp3 ⁺ CD127 ^{low} в крови. Балашова Л.М., Намиот В.А., Колесниченко И.И., Кузнецова Ю.Д., Лесовой С.В., Балашов А.А., Черкашин Д.Р., Кантаржи Е.П., Быковская С.Н., Салмаси Ж.М.	78
✓	МЕТОД МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ЛУЦЕНТИС И ЭЙЛИА, ПРЕПЯТСТВУЮЩИХ НОВООБРАЗОВАНИЮ СОСУДОВ Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Намиот В.А., Колесниченко И.И., Кузнецова Ю.Д., Лесовой С.В., Салмаси Ж.М.	89
✓	ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ, ЖИДКОСТИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА И СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ИНВЕРСИОННОЙ МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ У ДЕТЕЙ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ И ВРОЖДЕННОЙ КАТАРАКТОЙ С ЗАДАННЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И ИССЛЕДОВАНИЯМИ, В ТОМ ЧИСЛЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ В КРОВИ Т-РЕГУЛЯТОРОВ CD4 ⁺ CD25 ^{high} Foxp3 ⁺ CD127 ^{low} и VEGF А. Балашова Л.М., Намиот В.А., Колесниченко И.И., Кузнецова Ю.Д., Лесовой С.В., Балашов А.А., Черкашин Д.Р., Кантаржи Е.П., Быковская С.Н., Салмаси Ж.М.	95
✓	МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МОЛНИНОСНОЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ Шарипова А.У., Саукенова Д.М., Смагулова С.А.	106
✓	ВЗАИМОВЛИЯНИЕ БИОМАРКЕРОВ ОКТ И ОКТА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА Юсеф Н.Ю., Дуржинская М.Х., Павлов В.Г., Петрачков Д.В., Гуревич И.Б., Яшина В.В., Тлеубаев А.Т., Фадеев В.В., Полубояринова И.В., Гольдшмид А.Е., Карамуллина Р.А., Липатов Д.В., Будзинская М.В.	110
✓	УРОВЕНЬ СЕРОТОНИНА В СЛЕЗОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ (пилотное исследование). Неров В.В., Чеснокова Н.Б., Охочимская Т.Д., Павленко Т.А., Безнос О.В., Лисовская О.А., Дергогина Н.Е.	115

- ✓ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ МЕТОДОМ ПЦР В КРОВИ И ВНУТРИГЛАЗНЫХ ЖИДКОСТЯХ У БОЛЬНЫХ РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ, УВЕИТАХ НЕВЫЯСНЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ С ЭКССУДАЦИЕЙ В СТЕКЛОВИДНОЕ ТЕЛО, ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ, ВРОЖДЕННЫМИ КАТАРАКТОЙ И ГЛАУКОМОЙ Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Лесовой С.В., Коробова Л.С., Бакунина Н.А., Стенина М.А., Быковская С.Н., Салмаси Ж.М. 120
- ✓ ВОЗРАСТНАЯ МАКУЛЯРНАЯ ДЕГЕНЕРАЦИЯ В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Федоров А.А., Кузнецова Ю.Д., Попов А.В., Винер М.Е. 153
- ✓ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОНЬЮНКТИВЫ И СКЛЕРЫ ПОСЛЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ АППЛИКАЦИИ РАСТВОРА ЦИКЛОСПОРИНА ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO* Жигальская Т.А., Кривошеина О.И. 164
- ✓ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ СЕТЧАТКИ Шелковникова Т.В., Вавин Г.В., Капустин С.И., Кашадзе Ю.Л., Лукоянычева Е.Б., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 168
- ✓ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА Д *VDR2A>G* У ЖЕНЩИН С ПРОЛАПСОМ ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ: ИССЛЕДОВАНИЕ «СЛУЧАЙ - КОНТРОЛЬ» Бортник Е.А., Миляева Н.М. 173
- ✓ СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПАТОГЕНЕЗ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА Бельх Н.С., Исламиди Д.К. 179

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ РАЗРАБОТКА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ. Балашова Л.М., Бакунина Н.А. 188
- ✓ МАТЕРИАЛ «ЛИТАР» В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛАУКОМЫ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ Солонина С.Н., Трояновский Р.Л., Малиновская Н.А., Баранов А.В., Литвинов С.Д., Мегела Д.В. 199
- ✓ МЕДИКАМЕНТОЗНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ И ПРЕПАРАТОВ, УЛУЧШАЮЩИХ КРОВООБРАЩЕНИЕ (НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ). Бакунина Н.А., Колесникова Л.Н., Салмаси Ж.М., Балашова Л.М. 202
- ✓ ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ КРУПНОЙ ЭПИБУЛБАРНОЙ МЕЛАНОМЫ И МЕЛАНОМЫ СВОДА ПРОДОЛЖЕННОГО РОСТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАЗЕРНОЙ ЭКСЦИЗИИ И ГАММА-НОЖА Трояновский Р.Л., Солонина С.Н., Иванов П.И., Литвинов С.Д., Медников С.Н. 213
- ✓ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭПИРЕТИНАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРОУРОКИНАЗЫ В СОЧЕТАНИИ С «МАССАЖЕМ» РЕТИНАЛЬНЫХ ВЕН ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОМБОЗА ЦЕНТРАЛЬНОЙ ВЕНЫ СЕТЧАТКИ И ЕЕ ВЕТВЕЙ Крылова А.А., Кривошеина О.И. 216
- ✓ ОЦЕНКА СОЗРЕВАНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА И ДИАГНОСТИКА ПОСТГИПОКСИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ МЕТОДОМ РЕГИСТРАЦИИ ЗРИТЕЛЬНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ Хаценко И.Е., Данилова О.М., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 220
- ✓ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПРИ СИНДРОМЕ «СУХОГО ГЛАЗА» У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ Москалец О.В., Мусаев П.И., Рязцева А.А., Ализаде Г.Х., Акберова С.И. 223
- ✓ ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ЛУЦЕНТИС» В ЛЕЧЕНИИ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ Лесовой С.В., Богинская О.А., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 229
- ✓ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ПВХРД, ПОКАЗАНИЯ К ЛАЗЕРКОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ Шелковникова Т.В., Сибирская Е.В., Вавин Г.В., Поленикова Е.С., Белозерова Д.Ю., Шишлияникова Н.Ю. 234
- ✓ КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ СЕРОЗНОЙ ХОРИОРЕТИНОПАТИИ Шелковникова Т.В., Баркова Н.Ю., Лысухина И.Н., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 239

✓	ВОЛЧАНОЧНЫЙ АНТИКОАГУЛЯНТ У ПАЦИЕНТОВ С ВАСКУЛИТОМ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА. КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА Шелковникова Т.В., Кацадзе Ю.Л., Вавин Г.В., Баркова Н.Ю., Барбараш О.Л., Трубникова О.А., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М.	244
✓	УВЕИТЫ И ЭКССУДАЦИЯ В ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЕ: ИАГ-ЛАЗЕРНОЕ ЛЕЧЕНИЕ Иванов А.Н., Танковский В.Э..	248
✓	НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛАУКОМЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ УАГ-ЛАЗЕРА С УДВОЕНИЕМ ЧАСТОТЫ Кремкова Е.В., Новодержкин В.В., Рабаданова М.Г.	250
✓	МЕДИКАМЕНТОЗНЫЕ УВЕИТЫ, КАК ВАРИАНТ Танковский В.Э., Иванов А.Н.	254
✓	ПРЕЖДЕВРЕМЕННАЯ ОТСЛОЙКА ПЛАЦЕНТЫ КАК ИСХОД ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛАЦЕНТЫ: ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ Багиянц В.А., Миляева Н.М.	256
✓	СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ Исламиди Д.К., Д.К.Белых.	261
✓	ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПОДРОСТКОВ С ВТОРИЧНОЙ АМЕНОРЕЕЙ Лаврентьева И.В., Миляева Н.М.	266
✓	ДАННЫЕ ЦЕНТРА ОХРАНЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2021 ГОД. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Торубаров С.Ф., Сысоева И.В., Папаян Л.Г., Бдоян В.В., Бурханская Е.Д., Волкова Е.А., Аббасова Г.Н.	270
✓	АНОМАЛЬНОЕ МАТОЧНОЕ КРОВОТЕЧЕНИЕ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА В ЭКСТРЕННОЙ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЕ Адамян, Л.В. Сибирская Е.В., Торубаров С.Ф., Сысоева И.В., Папаян Л.Г., Бдоян В.В., Бурханская Е.Д., Волкова Е.А., Кириллова Ю	279
✓	ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ У ПОДРОСТКОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР) Сибирская Е.В., Волкова Е.А., Бдоян В.В., Бурханская Е.Д., Папаян Л.Г.	282
✓	НАРУШЕНИЯ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА У ПОДРОСТКОВ, ВЫЗВАННЫЕ ПАНДЕМИЕЙ COVID-19. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) Сибирская Е.В., Караченцова И.В., Кириллова Ю.А., Лошкарева М. А., Красивская А.В.	287
✓	АНОМАЛЬНЫЕ МАТОЧНЫЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА: КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Караченцова И.В., Кириллова Ю.А., Лошкарева М.А., Курабанова П.Ф., Никишина А.В.	294
✓	МУЦИНОЗНЫЕ ЦИСТАДЕНОМЫ, КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ У ДЕВОЧЕК В ПРАКТИКЕ ДЕТСКОГО ГИНЕКОЛОГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) Сибирская Е.В. ^{1,4} , Караченцова И.В. ^{1,2} , Павлова Е.В. ² , Шарков С.М. ^{3,5} , Аргун М.З. ¹ , Кириллова Ю.А., Меленчук И.А.	299
✓	АНЕСТЕЗИЯ И СПОСОБ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ОБЕЗБОЛИВАНИЯ У ПАЦИЕНТА С ЮВЕНИЛЬНОЙ АНГИОФИБРОМОЙ НОСОГЛОТКИ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ) Коробова Л.С., Матинян Н.В., Лазарев В.В., Цинцадзе А.А., Меркулов О.А., Королев В.А., Балашова Л.М.	308
✓	АНЕСТЕЗИЯ И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ, ЛАКТАТА, КОРТИЗОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ЭНДОНАЗАЛЬНОЙ РИНОСИНУСХИРУРГИИ У ДЕТЕЙ Овчар Т.А., Лазарев В.В.	315
✓	АМИЛОИДОЗ СЕРДЦА Резник Е.В., Нгуен Т.Л.	320
✓	ПОРТРЕТЫ БОЛЬНЫХ С АМИЛОИДОЗОМ Резник Е.В., Нгуен Т.Л.	333
✓	НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ЗРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЛАУКОМОЙ Кангаржи Е.П.	343
✓	ФАРМАКОКИНЕТИКА МАКРОЛИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ТЕРАПИИ Скрябина А.А., Никифоров В.В., Шахмарданов М.З., Бурова С.В.	350

ТЕЗИСЫ

✓	СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ НЕОКИСЛЕННЫХ И ОКИСЛЕННЫХ БИСРЕТИНОИДОВ ЛИПОФУСЦОВЫХ ГРАНУЛ В КЛЕТКАХ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ Яковлева М.А., Островский Д.С., Хубецова М.Х., Борзенко С.А., Островский М.А., Фельдман Т.Б.	353
✓	ДЕГИДРОТЕРМИЧЕСКИЙ КРОССЛИНКИНГ СТРОМАЛЬНЫХ ГРАФТОВ РОГОВИЦЫ СВИНЬИ: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ОСНОВНЫЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Попов И. А., Анисимов С. И., Балашова Л. М.	353

- ✓ СИНДРОМ ОСТРОГО ЛИЗИСА ОПУХОЛИ У ДЕТЕЙ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ Акимов В.П., Матинян Н.В., Валиев Т.Т., Милутис Р.В., Тухватуллина Р.Р. 354

- ✓ ТАКТИКА И СРОКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА У ДЕТЕЙ Кузнецова Ю.Д., Асташева И.Б., Хаценко И.Е., Балашова Л.М., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. 354

- ✓ СРОКИ ФИКСАЦИИ КОМБИНИРОВАННОЙ БИОКОНСТРУКЦИИ С КЛЕТКАМИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЛИМБАЛЬНО-КЛЕТОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ Целяя Т. В., Ченцова Е. В., Боровкова Н. В., Сторожева М. В., Макаров М. С. 355

- ✓ ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМЫ, СОЧЕТАННОЙ С АНОМАЛИЯМИ РАЗВИТИЯ ПЕРЕДНЕГО ОТДЕЛА ГЛАЗА Кузнецова Ю.Д., Асташева И.Б., Зверева А.Н., Хаценко И.Е., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 356

- ✓ ОРГАНИЗАЦИЯ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ. СИСТЕМА КАТАМНЕСТИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ НА БАЗЕ ВТОРОГО УРОВНЯ ГОРОДСКОЙ ПОЛИКЛИНИКИ В СВАО Г. МОСКВЫ Лесовой С.В., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 356

- ✓ ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ГЛАУКОМЫ НА ОСНОВЕ ВЫЯВЛЕННЫХ ИММУНОГЕМОСТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Гришин В.Л., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. 356

- ✓ ОБЪЕКТИВНАЯ ПРОВЕРКА ОСТРОТЫ ЗРЕНИЯ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ Хаценко И.Е., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М. 357

- ✓ ПЕРВИЧНАЯ ЗАКРЫТОУГОЛЬНАЯ ГЛАУКОМА – АУТОИММУННЫЙ ПРОЦЕСС Бакунина Н.А., Новиков А.А., Балашова Л.М. 357

БОРЬБА С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИЕЙ НА ЭТАПАХ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ВОЙНАХ XX–XXI вв.

Рейтузов В. А.¹, Трояновский Р. Л.²

¹Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

²Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, г. Санкт-Петербург

Резюме: Статья посвящена развитию витреоретинальной хирургии в нашей стране. Рассмотрены вопросы хирургического лечения травм и ранений органа зрения, осложнившиеся пролиферативной витреоретинопатией. Показан характер ранений органа зрения и оказание офтальмологической помощи во время I и II мировых войн. Описаны локальные конфликты в Афганистане, Северном Кавказе, а также принципам проведения витреоретинального пособия в современное время.

Ключевые слова: витреоретинальная хирургия, пролиферативная витреоретинопатия, мировые войны, локальные конфликты, история медицины, офтальмохирургия.

The Medical Approaches to Surgery Proliferative Vitreoretinopathy at the Steps of Medical Care in the Wars of the XX-XXI centuries

V. A. Reytuzov¹, R. L. Troyanovsky²

¹Institute of Physiology, I. P. Pavlov RAS

²Military Medical Academy named after S. M. Kirov, St. Petersburg

Summary: The Article is devoted to the development of vitreoretinal surgery in our country. The issues of surgical treatment of trauma and injuries of the vision organ are considered. The nature of injuries and ophthalmic care during the 1st and 2nd world wars are demonstrated. Local conflicts in Afganistan, North Caucasus are describes, as well as the principles of vitreoretinal support in modern times.

Key words: vitreoretinal surgery, proliferative vitreoretinopathy, world wars, local conflicts, history of medicine, ophthalmic surgery.

В XIX в. основные усилия военных врачей были направлены в основном на лечение воспалительных заболеваний глаз [9,10,22]. Лечение поражений органа зрения осуществляли хирурги. Большой вклад внёс Н. И. Пирогов [16]. Но Первая мировая война – первая крупномасштабная война XX в. по своей кровопролитности и продолжительности превзошла все войны XIX в., взятые вместе. В лечебные учреждения России, стал поступать поток раненых, значительно превышавший возможности по их приёму военными и гражданскими стационарными медицинскими учреждениями [21, 26].

К оказанию медицинской помощи активно подключилась все слои российского общества. В Зимнем дворце и в Царском селе по указанию императора Николая II Александровича развернули госпитали и лазареты. Его жена и дочери лично оказывали помощь больным. Высшие царские сановники, чиновники, купцы следовали примеру первого лица государства. В одном только Санкт-Петербурге было развёрнуто более 100 лечебных учреждений [21, 26].

В это время как отдельная дисциплина выделяется военно-полевая офтальмология. Причины: увеличение доли глазных раненых по ведущему поражению от 0,5% в XIX в. до 2%, увеличение открытой травмы глаза до двух третей в структуре поражений органа зрения за счет осколочных ранений от артиллерийского огня. При этом существенно (до 30%)

выросла частота ранений с наличием инородных тел внутри глаза [11, 21, 27]. В 1917 г. Н. И. Шимкин в диссертации «Огнестрельные повреждения органа зрения в современной войне» обобщил как собственный опыт лечения 238 раненых с поражением органа зрения в госпиталях Головного эвакуационного пункта в 1914–15 гг. Кроме того, включено 341 наблюдение у глазных больных директора глазной клиники Университета Св. Владимира профессора А.Ф. Шимановского (1860–1918) – научного консультанта Н. И. Шимкина [27]. В 55% случаев глаза были удалены, в 15% остались слепыми или лишены форменного зрения, и только в 30% удалось сохранить предметное зрение. Двухсторонняя слепота наблюдалась в 11%. Наличие внутриглазных инородных тел почти всегда обрекало глаза на первичную или профилактическую энуклеацию [21, 27].

К июню 1915 г. на фронтах работали 30 автомобильных отрядов, оснащенных рентгеновскими станциями, позволявшие диагностировать внутриглазные инородные тела с помощью рентгенологического метода Келера-Головина и проводить их извлечение с помощью электромагнитов

([11, 21, 27, 28].

В практике военных офтальмологов применялось конъюнктивальное покрытие роговично-склеральных ран по Г. Кунту, также описаны иридэктомия, удаление хрусталиковых масс или травматической катаракты [11, 27].

Профессором кафедры офтальмологии Военно-медицинской академии Л. Г. Беллярминовым заложены организационные основы военно-полевой офтальмологии. Это и организация «подвижных глазных отрядов»; формирование лазаретов, глазных отделений, офтальмологических госпиталей [8].

Существенным вкладом в развитие отечественной офтальмохирургии стали «Руководство по глазным болезням» в трёх томах (1930) под ред. Л. Г. Беллярминова и А. И. Мерца; «Руководство глазной хирургии» в двух томах (1933 и 1934 гг.) В. П. Одинцова и К. Х. Орлова; карманное руководство для военных врачей «Болезни и травмы глаза у военнослужащих» (1934) В.Н. Долганова.

В 30-ые годы диагностика внутриглазных инородных тел была значительно улучшена после внедрения в клиническую практику методики Комберга-Балтина. Во время боевых действий во время конфликтов с Японией (1939) стала внедряться система оказания офтальмологической помощи на этапах медицинской эвакуации [2]. После хирургической обработки из ППГ раненые поступали в эвакуогоспиталь. Офтальмологических раненых направляли в военный госпиталь в Читу, в котором при ранениях глаз стали накладывать роговичные и склеральные швы [12].

Во время войны с Финляндией (1939–40) организация специализированной офтальмологической помощи значительно улучшилась [12, 21]. Впервые были созданы армейские офтальмологические группы медицинского усиления с необходимым для работы оснащением.

Следующим этапом медицинской эвакуации стали глазная клиника Военно-медицинской академии, в ней был организован для рентгенолокализации внутриглазных инородных тел рентгеновский кабинет и ленинградский Институт глазных болезней им. Гиршмана, также оснащенный электромагнитом Меллингера-Клингельфуса. Исходы лечения глазных раненых, пострадавших от огнестрельного оружия существенно улучшились, слепота на один глаз снизилась до 53,5%, двухсторонняя – до 4,1% [12, 18, 21].

Специализированная офтальмологическая помощь продолжала совершенствоваться во время Великой Отечественной войны 1941 – 1945 гг. Введение в Советской Армии в 1942 г. должности Главного офтальмолога (полковник м/с Н. А. Вишневский), а затем в 1943 г. главных офтальмологов фронтов, армий позволило сделать максимально эффективной офтальмохирургическую помощь, которая могла быть оказана в то время [1, 19 – 21, 26].

В Великой Отечественной войне частота огнестрельных ранений глаз, как ведущего повреждения по данным многочисленных источников составила 2,6%. Удельный вес осколочных ранений, при этом достиг 73–85%, тогда как пулевых – от 9,3 до 20,7% всех огнестрельных повреждений глаз. Преобладание поражений осколками привело к большей частоте (до 70%) множественных и сочетанных ранений глаз и других органов. Бинокулярные ранения были зарегистрированы в 23,4% случаев. Внутриглазные инородные тела

были выявлены в одной трети случаев (30,9-37,0%), причем множественные – в 14–20%. Осколки оказались в 60-75% магнитными [1, 19 – 21, 26].

Б. Л. Поляком, П. Я. Болговым были обоснованы рекомендации перейти от переднего пути удаления осколков через рану к более щадящему диасклеральному методу, который, начиная с 1944 г. стали ведущим при удалении внутриглазных инородных тел. В целом наметилась тенденция к сокращению числа энуклеаций, расширению применения оптико-реконструктивных операций. По обобщенным данным слепота обоих глаз была у 3,9% раненых с поражением глаз, слепота на один глаз – 62% [12, 19 – 21, 26].

Изучая методы герметизации открытой травмы глаза Б. Л. Поляком (кафедра офтальмологии ВМА) и Э. Ф. Левкоевой (МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца) на основании многочисленных морфогистологических исследований было доказано преимущество закрытия швами ран роговицы и склеры перед конъюнктивальным покрытием зияющих ран глазного яблока [15, 20, 21]. Однако, конъюнктивальная пластика производилась окулистами ОРМУ примерно в 10 раз чаще, чем наложение роговичных и склеральных швов. Это объяснялось недостатком опыта, отсутствием оснащения, трудностью наложения швов с хирургической иглой на роговицу.

Проникающие ранения глазного яблока заканчивались слепотой в 76% случаев, остаточное зрение сохранилось в 13%, и только в 11% острота зрения была 0,05 и выше [20, 21]. Причину гибели глаз видели в развитии эндофтальмита, металлоза при неудачных инородных телах или вследствие "организации" гемофтальма и развития обширных тракционных отслоек сетчатки [5, 7, 26, 27].

Распространению в мировой практике на рубеже 60-70-х годов нового офтальмохирургического подхода к лечению пострадавших с внутриглазными инородными телами способствовало сотрудничество В. В. Волкова и Н. Neubauer из ФРГ. Оба, независимо друг от друга, в 1967 г. предложили решения использовать трансквитреальный доступ с транспупиллярным визуальным контролем [23]. В. В. Волковым на XXII Международном Конгрессе офтальмологов в Париже в 1974 г. предложено проводить витреопуэктомию при эндофтальмите и продемонстрирован фильм [6]. В 1977–1983 гг. проф. В. В. Волковым, Р. Л. Трояновским, другими его учениками разработаны основные принципы одномоментной исчерпывающей хирургической обработки прободной травмы глаза [7, 23, 24], стали разрабатываются отечественные микроскопы, позволяющие проводить хирургические вмешательства в полевых условиях («Линза МТ-4»), микрохирургический инструментарий.

В Афганской кампании (1979–1989) в качестве начальников офтальмологического отделения 650 военного госпиталя принимали участие преподаватели кафедры офтальмологии ВМедА: Б. В. Монахов (1982–1984), М. М. Дронов (1984–1985), В. Ф. Даниличев (1985–1986), Р. Л. Трояновский (1986–1988). Подавляющее большинство огнестрельных ранений глаз (1459 пострадавших) нанесены осколками (94%), из которых 82,3% составляли поражения, возникшие от взрывов боеприпасов на близком расстоянии, что приводило в 80% к сочетанным и множественным повреждениям многих областей тела, в том числе отрывам конечностей. Частота ранений органа зрения с учетом сочетанного характера повреждений достигала 5,6% (в 3,5% повреждения глаз были ведущими). Прободные ранения глаз (открытая травма глаза - ОТГ), наблюдавшиеся в 66% случаев, сопровождались контузией от взрывной волны в 89%, что значительно отягощало повреждения, и трактовалось как коммоционно-контузионный синдром. Бинокулярные повреждения отмечены у 39,7% от всех глазных раненых (в обоих глазных яблоках они были прободными – у 21,9%). Особой тяжестью отличались минно-взрывные ранения: при этом частота ранения обоих глаз возрастала до 79,6%, в том числе прободные были у 71,3%, у 32,4% – двухсторонние, в 28,7%, с разрушением глаза. Впервые на театре военных действий различные типы витрэктомии (мировой приоритет!) были выполнены у 57,4% пострадавших. Форменное зрение было восстановлено в 54,2% поврежденных глаз. Энуклеации (эвисцерации) составили 17,6% операций при ОТГ [3, 17, 23, 24]. Наряду со значительным снижением частоты осложнений в 2-3 раза (торпидные увекты, эндофтальмиты, витрорециальная пролиферация), гораздо лучшими стали исходы по сравнению с результатами ПХО (ушивание ран фиброзной капсулы глаза, диасклеральное удаление магнитных инородных тел) без витрэктомии [3, 17, 23, 24]. Р. Л. Трояновским был сделан вывод, что именно пролиферативная витрорецинопатия определяет судьбу травмированного глаза (Р. Л. Трояновский, 1994).

Руководители кафедры офтальмологии в 1989–2003 гг. проф. В. Ф. Даниличев и проф. М. М. Шишкин (последовательно возглавлявшие кафедру до 1997 г. и до 2002 г.) обобщили опыт локальных конфликтов на Северном Кавказе и в Югославии. В то время на кафедре проводились фундаментальные исследования по проблеме пролиферативной витреоретинопатии, на кафедре был организован нештатный центр витреоретинальной хирургии.

В медицинской сортировке стала выделяться группа раненых, нуждающихся в проведении витреоретинальной хирургии. Для этих раненых признано, что оптимальным является проведение комбинированного микрохирургического вмешательства в витреоретинальных центрах на базах 1602 ОВКГ (Ростов-на-Дону) и в 301 ОВКГ (Хабаровск).

Анализ результатов лечения поврежденных глаз при антитеррористической операции на Северном Кавказе показал, что органосохранная хирургия открытой травмы глаза оказалась эффективной. Если во время Великой Отечественной войны энуклеации осуществлялись в 40–60%, в Афганистане до 25% энуклеаций, то на Северном Кавказе до 10%, несмотря на то, что тяжесть травмы была много тяжелее, чем раньше!

В годы руководства кафедрой офтальмологии проф. Э. В. Бойко (2003–2017 гг.) признано, что в вооруженном конфликте внедрение витреоретинальных технологий в лечении боевой открытой травмы глаза – необходимое и обязательное условие [3, 4]. Это позволило значительно улучшить исходы лечения пострадавших с боевой ОТГ (предметное зрение восстановлено у 47,2%). Признано, что витреоретинальное оснащение и ВРХ целесообразно внедрять во II-м и в III-м эшелонах специализированной офтальмологической помощи. А желательно использовать два этапа специализированной офтальмологической помощи. Необходима подготовка специалистов (циклы витреоретинальная хирургия и лазерная хирургия). Признано, что необходимо проводить математическое моделирование процесса лечения раненого с ОТГ для определения оптимального организационного варианта построения системы оказания специализированной медицинской помощи.

Опыт оказания специализированной офтальмологической помощи в современных вооруженных конфликтах показал, что с одной являно улучшились методы витреоретинальной хирургии, но с другой поражающие факторы также стали более интенсивными.

Традиционно известные причины поражения органа зрения (минно-взрывной характер повреждения, обширный объем повреждения внутриглазных структур не могут объяснить крайне низкие функциональные исходы хирургического лечения ОТГ с одновременным повреждением структур как переднего, так и заднего сегмента [13, 14, 25]. Особое внимание уделяется своевременной диагностике тяжелой травматической нейроретинопатии, усугубляющейся хирургическими вмешательствами, а также описанный сотрудниками кафедры внутриглазной синдром взаимного отягощения, возникающий вследствие обширного повреждения структур глаза. Для современных операций введено определение – оптикореконструктивная витреоретинальная хирургия (ОРВРХ) как вынужденная необходимость использования в ходе одного оперативного вмешательства при лечении пациентов с тяжелой ОТГ элементов оптикореконструктивной – на структурах переднего сегмента и витреоретинальной – на структурах заднего сегмента хирургии позволяет нам предложить новое [3, 13, 14, 25].

Таким образом, невозможно переоценить значимость первого хирургического вмешательства как с точки зрения необходимого и достаточного радикализма, так и регламента всей последующей системы хирургических вмешательств [4, 13, 14, 25].

Т.о. в войнах XX века офтальмологами воюющих сторон констатировано увеличение частоты ранений органа зрения более чем в два раза по сравнению с войнами XIX столетия с 0,5-0,86% до 2,2%, – 5,6% и выше.

Сформировалась система этапного лечения с эвакуацией по назначению. В зависимости от особенностей ТВД возникла тенденция к сокращению этапов эвакуации (в том числе, до двух).

Пройден путь от лечения офтальмологических раненых в хирургических отделениях госпиталя, в лазаретах и частных госпиталях до специализированных офтальмологических отделений (офтальмотравматологического центра) в

составе многопрофильных учреждений.

Список литературы:

1. Bayevsky, A. L. General principles of treatment of gunshot wounds and eye injuries and their appendages // Experience of Soviet medicine in the great Patriotic war of 1941-45 – M., 1951. – Vol. 7-P. 61-81. (Баевский А.Л. Общие принципы лечения огнестрельных ранений и повреждений глаз и их придатков // Опыт Советской медицины в Великой Отечественной войне 1941-45 гг. – М., 1951. – Т. 7 – С. 61-81.)
2. Baltin, M. M. To the question about removing the intraocular fragments // Annals of Ophthalmology. - 1944. - Vol. 23. - Issue. 5. - P. 20-26/ (Балтин М.М. К вопросу об извлечении внутриглазных осколков // Вест. Офтальмологии. – 1944. – Т.23. – Вып. 5. – С. 20–26.)
3. Boyko, E. V. Organization of specialized ophthalmological care with the use of vitreoretinal surgery (CP) in the treatment of open eye injury / E. V. Boyko, S. V. Churashov // Military. – med. Journal. – 2006. –Т. 327, No. 10. - P. 16-21. (Бойко Э.В. Организация специализированной офтальмологической помощи с применением витреоретинальной хирургии (ВРХ) при лечении боевой открытой травмы глаза / Э.В. Бойко, С.В. Чурашов // Воен. – мед. журн. – 2006. –Т. 327, № 10. – С. 16–21.)
4. Boyko, E. V. Vitreoretinal surgery in the treatment of combat open eye injury / E. V. Boyko, M. Shishkin, S. V. Churashov / Annals of. Russian military.- med. Akad. – ADJ. – 2010. № 1 (29) – P.167–171. (Бойко Э.В. Витреоретинальная хирургия в лечении боевой открытой травмы глаза / Э.В.Бойко, М.М. Шишкин, С.В. Чурашов / Вестн. Рос. воен.–мед. акад. – Прил. – 2010. № 1 (29) – С. 167–171.)
5. Braunstein, N. E. Genesis and the role of inflammation in the pathology of gunshot eye injury. // Annals of Ophthalmology. – 1948. – Vol. 27. – Issue. 52–P. – 17-21. (Браунштейн Н.Е. Гenez и роль воспалительного процесса в патологии огнестрельной травмы глаза. // Вест. Офтальмологии. – 1948. –Т.27. – Вып. 52 – С. – 17-21.)
6. Volkov, V.V. Le drainage du pus vitreien dans le tretmen de l'endophthalmie traumatique // 12e Congres international d'ophthalmologie. – Paris, 1974. – P. 216.
7. Volkov, V. V. Open eye injury – SPb.: MMA S. M. Kirova, 2016. – 350 p. (Волков В.В. Открытая травма глаза – СПб.: ВМедА им. С. М. Кирова, 2016. – 350 с.)
8. Danilichev, V. F. A. Academician Leonid G. Belarminov/ V. F. Danilichev, A. N. Kulikov, V. A. Reytuzov, Yu. A. Kirillov– SPb.: MMA, 2018. - 64 p. (Даниличев В.Ф., Академик Леонид Георгиевич Беллярминов/ Куликов А. Н., Рейтузов В. А., Кириллов Ю.А.– СПб.: ВМедА, 2018. – 64 с.)
9. Delov V. S. Materials for the history of ophthalmology in Russia: dis. ... doctor of medicine. – SPb., 1895 – 144 p. (Делов В.С. Материалы для истории офтальмологии в России: дис. ... д-ра медицины. – СПб., 1895 – 144 с.)
10. Cabath de J. De l'Ophthalme militaire de Russie // Congress d'Ophthalmologie de Brusseles Session de 1857. – Paris. – 1858. – S. 420.
11. Katz R. And Military field surgery of the eye. – Petrograd,- 1917.- 70 p. (Кац Р.А Военно-полевая хирургия глаза. – Пг., – 1917.– 70 с.)
12. Kulikov A. N., Reytuzov V. A., Kirillov Yu. a. Ophthalmology in the book. Veterans of the great Patriotic war (1941-1945) of the Military medical Academy. S. M. Kirova: Book 2 / pod. Red I. D. Kosachev, A. I. Levshenkov. – Saint Petersburg: Spetslit, 2016. - P. 363-387. (Куликов А. Н., Рейтузов В. А., Кириллов Ю.А. Офтальмология в кн. Ветераны Великой Отечественной войны (1941 – 1945) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова: Книга 2 / под. Ред И. Д. Косачёва, А. И. Левшанкова. – СПб: СпецЛит, 2016. – С. 363-387.)
13. Kulikov, A. N. Comparative evaluation of the effectiveness of synthetic glucocorticoids in the treatment of traumatic neuropathy in vitreoretinal interventions for open eye injury/ A. N. Kulikov, S. V.Churashov, S. V. Sosnovsky / Modern technologies in ophthalmology - issue № 3(16) / 2017 – Pp. 133-135. (Куликов, Сравнительная оценка эффективности применения синтетических глюкокортикоидов в лечении травматической нейрооптикопатии при витреоретинальных вмешательствах по поводу открытой травмы глаза/ А.Н. Куликов, С.В. Чурашов, С.В. Сосновский // Современные технологии в офтальмологии

14. Kulikov, A. N. Ophthalmic Traumatological assistance in the Armed Forces of the Russian Federation/ Kulikov A. N., Churashov S. V., Sosnovsky S. V., Shamrei D. V. ophthalmic // Scientific works of scientific and practical conference with international participation "IX Russian national ophthalmological forum". - М. - 2016. - Vol. 1. - P. 58-62. (Куликов А.Н., Чурашов С.В., Сосновский С.В., Шамрей Д.В. Офтальмотравматологическая помощь в Вооруженных Силах РФ / Куликов А.Н., Чурашов С.В., Сосновский С.В., Шамрей Д.В. // Сборник научных трудов научно-практической конференции с международным участием «IX Российский общенациональный офтальмологический форум». – М. – 2016. – Том. 1. – С. 58-62.)
15. Levkoeva E. F. Wound process in the eye. М.: AMR SU, 1951. –152 p. (Левкоева Э.Ф. Раневой процесс в глазу. М.: Изд-во АМН СССР, 1951.–152 с.
16. Pirogov N. And. The beginning of General military field surgery / N. A. Pirogov. – М.; L.: Medgiz, 1941. - Part I.-338 p. (Пирогов Н.И. Начала общей военно-полевой хирургии / Н.И. Пирогов – М.; – Л.: Медгиз, 1941. – Ч.1 – 338 с.)
17. Damage to the organ of vision. V. V. Volkov, L. R. Troyanovsky, B. Monakhov, V. F. Danilichev // Experience of medical support of troops in Afghanistan 1979-1989: In 5 vols / ed. by I. A. Erygina, V. I. Khrupkin. – Main military clinical hospital them. Akad. N. N. Burdenko, Moscow, 2003. - Vol. 3, GL. 2. - P. 61-95.(Повреждения органа зрения. /В.В. Волков, Р.Л. Трояновский, Б.В.Монахов, В.Ф. Даниличев // Опыт медицинского обеспечения войск в Афганистане 1979–1989 гг.: В 5 т. / Под ред. И.А. Ерохина, В.И. Хрупкина. – ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко – М., 2003. – Т. 3, Гл. 2. – С. 61–95.)
18. Polyak, B. L. Ophthalmic help in the front area during the war with the white Finns // Problems of Organization of health services. L., 1940. - P. 162-172.(Поляк Б.Л. Офтальмохирургическая помощь во фронтовом районе во время войны с белофиннами // Вопросы организации санитарной службы. Л., 1940. – С.162–172.)
19. Polyak, B. L. Surgical treatment of penetrating and through eye wounds, as well as the destruction of the eyeball // Experience of Soviet medicine in the Great Patriotic war 1941-45 – М., 1951. - Vol. 7-Р. 102-116. (Поляк Б.Л. Хирургическая обработка при проникающих и сквозных ранениях глаза, а также при разрушениях глазного яблока // Опыт Советской медицины в Великой Отечественной войне 1941-45 гг. – М., 1951. – Т. 7 – С.102-116.)
20. Polyak, B. L. Military field ophthalmology: (combat damage to the organ of vision) - L.: Military.-honey. Akad., 1953. - 305 p.; (Поляк Б.Л. Военно-полевая офтальмология: (боевые повреждения органа зрения) –Л.: Воен.-мед. акад., 1953. – 305 с.);
21. Polyak, B. L. Russia's First Department of ophthalmology –L.: military medical Academy, 1969. - 40 p. (Поляк, Б.Л. Первая в России кафедра офтальмологии –Л.: ВМА, 1969. – 40 с.)
22. Savenko, I. P. Description of eye diseases among the crew of the Kronstadt port / P. I. Savenko, H. H. Salomon // Military medical journal. - 1824. – Part III, No. 1. - P. 78-124. (Савенко П. И., Саломон Х. Х. Описание глазной болезни между матросами Кронштадтского порта / П. И. Савенко, Х. Х. Саломон // Военно-медицинский журнал. – 1824. – Часть III, № 1. – С. 78–124.)
23. Troyanovsky R. L. Vitreoretinal microsurgery for injuries and severe eye diseases: dis. ...Dr. med. Sciences / R. L. trojanowski – Saint-Petersburg, MMA, 1993. - 272 p. (Трояновский Р.Л. Витреоретинальная микрохирургия при повреждениях и тяжелых заболеваниях глаз: дис. ...д-ра мед. наук / Р. Л. Трояновский – СПб, ВМедА, 1993. – 272 с.)
24. Troyanovsky R. L. microsurgery perforated wounds and severe contusions of the eye / L. R. Troyanovsky, B. Monakhov, I. V. Maksimov: method. recommendations. – М., SPb.: В. I., 2002. - 44 p. (Трояновский Р.Л. Микрохирургия прободных ран и тяжелых контузий глаз / Р.Л. Трояновский, Б.В.Монахов, И.Б.Максимов: метод. рекомендации. – М.; СПб.: Б.и., 2002. – 44 с.)
25. Churashov, S. V. On the causes of failures of multi-stage optical-reconstructive vitreoretinal surgery in severe open eye injury/ S. V. Churashov, A. N. Kulikov, S. V. Sosnovsky// XIII all-Russian scientific conference with international participation "Fedorov readings-2016 – - "Modern technologies in ophthalmology" - № 3 (11) – 2016. - P. 122-126. (Чурашов С.В., Куликов А.Н., Сосновский С.В. О причинах неудач многоэтапной оптико-реконструктивной витреоретинальной хирургии при тяжелой открытой травме глаз // XIII Всероссийская научная конференция с международным участием «Федоровские чтения - 2016» – «Современные технологии в офтальмологии» - № 3 (11) – 2016. - С. 122-126.)

26. Shagov M. A. history of the Department of ophthalmology of the Military-medical (formerly Medical-Surgical) Academy. S. M. Kirova: dis. ... kand. med. sciences/ M. A. Shagov. - L., 1951. - 463 p. Шагов М. А. История кафедры офтальмологии Военно-медицинской (бывшей медико-хирургической) академии им. С. М. Кирова: дис. ... канд. мед. наук/ М. А. Шагов. – Л., 1951. – 463 с.)
27. Shimkin N. I. Gunshot damage to the organ of vision in modern war^o: dis. ...doctor of medicine degree – Odes. Reg. Military.-prom. Com, 1917 - 395 p. (Шимкин Н.И. Огнестрельные повреждения органа зрения в современной войне»: дис. ...на степень доктора медицины – Изд. Одес. Обл. Воен.-пром. К-та, 1917 г.– 395 с.)
28. Eliasberg M. I. To the question of surgical treatment of eyes with perforating wounds of the cornea and traumatic cataract from the explosions of dynamite.// Russian doctor.1916, № 12. - P. 210-216. (Элиасберг М.И. К вопросу об оперативном лечении глаз с прободящими ранами роговицы и раневой катарактой от взрывов динамита.// Русский врач.1916, № 12. – С. 210-216.)

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

БИЛИРУБИН – БИЛИВЕРДИНОВАЯ СИСТЕМА И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАННЕГО РАЗВИТИЯ ГЛАЗА

Панова И.Г.¹, Татиколов А.С.²

¹НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Россия, Москва., E-mail: pinag@mail.ru

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, Москва,

Резюме

Исследование содержания билирубина в стекловидном теле в пренатальном развитии глаза человека показало его присутствие на изученных сроках с 17-й по 31-ю неделю (Панова и др., 2019, 2020). В настоящем кратком обзоре обсуждается возможная роль билирубина в раннем развитии глаза.

Ключевые слова: билирубин, биливердин, гемоксигеназа-1, стекловидное тело, развитие глаза, плод человека

BILIRUBIN - BILIVERDIN SYSTEM AND ITS SIGNIFICANCE FOR THE EARLY DEVELOPMENT OF THE EYE

I. G. Panova¹, A. S. Tatikolov²

¹International Scientific and Practical Center of Tissue Proliferation, Moscow,

²N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow,

Abstract

The study of the bilirubin content in the vitreous body during the prenatal development of the human eye showed its presence at the investigated periods from the 17th to the 31st week (Panova et al., 2019, 2020). This brief review discusses the possible role of bilirubin in the early development of the eye.

Keywords: bilirubin, biliverdin, heme oxygenase-1, vitreous body, eye development, human fetuses

Билирубин – желчный пигмент, компонент желчи в организме человека и животных. Билирубин хорошо известен как конечный продукт метаболизма гем-содержащих белковых молекул - гемоглобина, миоглобина и некоторых гем-содержащих ферментов (цитохрома, каталазы, пероксидазы). Большая часть (80%) билирубина образуется в результате деградации стареющих и разрушающихся эритроцитов. Основная масса эритроцитов подвергается разрушению внутриклеточно (в макрофагах) (Garby, Noyes, 1959; Sticova, Jirsa, 2013). Расщепление гема до водорастворимого биливердина происходит при участии гемоксигеназы. Затем биливердин восстанавливается биливердинредуктазой до водонерастворимого билирубина. В норме большая часть циркулирующего билирубина является неконъюгированным и циркулирует в плазме крови связанным с альбумином. Поступая в печень, билирубин отделяется от альбумина и поглощается гепатоцитами. В гепатоцитах он конъюгирует с глюкуроновой кислотой с участием печеночной UDP-глюкуронозилтрансферазы 1 (UGT1A1) с образованием «прямого» билирубина. Прямой билирубин водорастворим, поэтому он выводится с желчью и мочой. Нарушение конъюгации билирубина UGT1A1 может привести к клинической желтухе, которая является признаком печеночной недостаточности (Wang et al., 2006; Togawa et al., 2008). Билирубин является стандартным сывороточным биомаркером функции печени (Ziberna et al., 2016).

Билирубин является одним из важных эндогенных антиоксидантов сыворотки крови. В последнее время было показано, что наряду с антиоксидантными (Doré et al., 1999), билирубин обладает и другими биологическими свойствами, к которым относятся противовоспалительные, иммуномодуляторные, цитопротекторные и нейропротекторные (Doré et al., 1999; Sedlak, Snyder, 2004; Liu et al., 2008).

Долгое время билирубин рассматривали как цитотоксический метаболит железо-содержащего порфирина. Действительно, выше порогового уровня он является цитотоксическим. В концентрации выше 20 мМ билирубин убивает клетки; в то же время, при физиологических внутриклеточных концентрациях в диапазоне от 0.01 до 10 мМ он защищает клетки от окислительного стресса. Следовательно, требуется строгая регуляция его внутриклеточного уровня (Bargano et al., 2002; Sedlak, Snyder, 2004).

Присутствие билирубина было показано в эндотелии артериальных и венозных сосудов у крыс (Zibera et al., 2016). В клеточной линии эндотелия Ea.hy926 человека эти же авторы показали, что внутриклеточный билирубин может регулироваться либо внеклеточным поглощением билирубина, либо активацией гемоксигеназы-1, клеточного фермента, связанного с синтезом эндогенного билирубина. Антиоксидантная активность билирубина и биливердина в эндотелии сосудов может быть динамическим фактором эндотелиальной функции и определяет физиологический окислительно-восстановительный гомеостаз эндотелия сосудов (Zibera et al., 2016).

В норме у взрослого человека билирубин в стекловидном теле не обнаруживается, хотя при желтухе было показано присутствие билирубина в тканях глаза, в том числе и в стекловидном теле (Naumann, Young, 1960.). Желтуха часто встречается у доношенных и недоношенных новорожденных, и высокий уровень билирубина может приводить к повреждению мозга и неблагоприятным неврологическим исходам (Usman et al., 2018). При желтухе ткани глаза приобретают желтизну в результате отложения в них билирубина. Так, у мертворожденных или недоношенных младенцев с желтухой или гипербилирубинемией билирубин был найден в стекловидном теле. Эти данные были описаны для III триместра внутриутробного развития (Kurzel, Heinrikson, 1976). Однако роли билирубина в нормальном развитии глаза человека практически не уделялось внимания. В данном сообщении представлен краткий обзор, посвященный возможной роли билирубина в раннем развитии глаза.

Нами было проведено исследование содержания билирубина в стекловидном теле в нормальном пренатальном развитии глаза человека и было показано присутствие билирубина в стекловидном теле на разных стадиях внутриутробного развития с 17-й по 31-ю неделю (II и III триместры). Присутствие билирубина в стекловидном теле было обнаружено во всех образцах, полученных на разных стадиях внутриутробного развития с 17-й по 31-ю неделю (таблица). На более ранних стадиях (с 17-й по 19-ю неделю гестации; $n=3$) концентрация билирубина составила 9.1, 6.8 и 10.3 мкмоль/л (в среднем 8.67 мкмоль/л). С 20-й по 31-ю неделю ($n=6$) концентрация билирубина снижалась — 0.3-3.0 мкмоль/л (в среднем 1.37 мкмоль/л). Таким образом, средняя концентрация билирубина с 17-й по 19-ю неделю была в 6.3 раза выше, чем с 20-й по 31-ю неделю гестации (Панова и др., 2019, 2020).

Таблица. Концентрация билирубина в стекловидном теле глаза человека на разных сроках гестации

Возраст, нед	Билирубин, мкмоль/л	Средняя конц., мкмоль/л
17	9.1	8.67
18	6.8	
19	10.3	
20-21	1.3	1.37
21-22	2.2	
21-22	1.1	
24	0.3	
24	3.0	
31	0.3	

Согласно данным (Weiner, 1992), концентрация билирубина в сыворотке крови у плодов человека с 20-й по 38-ю неделю составляет в среднем 1.4 ± 0.3 мг/100 мл, т.е. 23.9 мкмоль/л. Следовательно, средняя концентрация билирубина в стекловидном теле с 20-й по 31-ю неделю приблизительно в 17.4 раза меньше, чем в сыворотке крови (Панова и др., 2020).

В стекловидном теле, где ранее нами было показано присутствие альбумина и АФП (Панова, Татикилов, 2011) билирубин, вероятно, связан с этими молекулами. Одним из источников поступления билирубина (связанного с альбумином и/или АФП) из циркулирующего кровеносного русла в стекловидное тело могут быть гиалоидные сосуды и развивающиеся сосуды сетчатки. Из стекловидного тела билирубин путём диффузии может поступать в клетки сетчатки и хрусталика. Билирубин и обнаруженные нами ранее в стекловидном теле альбумин и АФП (Панова, Татикилов, 2011), также обладающие антиоксидантными свойствами, вносят существенный вклад в антиоксидантный статус стекловидного тела глаза в раннем пренатальном развитии человека и при необходимости оказывают цитопротекторную и нейропротекторную защиту развивающимся сетчатке и хрусталику, а также клеткам эндотелия сосудов, в том числе и гиалоидных сосудов в эмбриональном развитии глаза.

В свете данных, где было показано присутствие билирубина, биливердина и гемоксигеназы-1 в эндотелии артериальных и венозных сосудов у крыс, и на клеточной линии эндотелия Ea.hy926 человека (Zibera et al., 2016), внутриклеточный билирубин, биливердин, биливердинредуктаза и гемоксигеназа-1 могут также присутствовать в эндотелии сосудов сетчатки и в эндотелии гиалоидных сосудов. Биологические и физиологические свойства этих молекул могут определять функциональную и регулирующую роль эндотелиальной функции сосудов развивающегося глаза.

Работа частично выполнена А.С. Татикиловым в рамках раздела ГЗ ИБХФ РАН № 001201253314.

Список литературы

- Панова И.Г., Татикилов А.С. Изв. РАН. Сер. биол. 2011. № 2. С. 235–239.
- Панова И.Г., Сухова Ю.В., Татикилов А.С., Полтавцева Р.А., Иванец Т.Ю., Сухих Г.Т. Гены и клетки. Научно-практ. журн. 2019. Т. XIV. С. 177.
- Панова И.Г., Сухова Ю.В., Татикилов А.С., Иванец Т.Ю. Бюлл. эксп. биол. мед. 2020. Т.170. № 7. С. 118–120.
- Baranano D.E., Rao M., Ferris C.D., Snyder S.H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 16093–16098.
- Doré S., Takahashi M., Ferris C.D., Zakhary R., Hester L.D., Guastella D., Snyder S.H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 2445–2450.
- Garby L., Noyes W.D. J. Clin. Invest. 1959. V. 38. P. 1479–1483.
- Kurzel R.B., Heinrikson R.L. Invest. Ophthalmol. 1976. V. 15. P. 509–512.
- Liu Y., Li P., Lu J., Xiong W., Oger J., Tetzlaff W., Cynader M. J. Immunol. 2008. V. 181. P. 1887–1897.
- Naumann H.N., Young J.M. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1960. V. 105. P. 70–72.
- Sedlak T.W., Snyder S.H. Pediatrics. 2004. V. 113. P. 1776–1782.
- Sticova E., Jirsa M. World J. Gastroenterol. 2013. V. 19. P. 6398–6407.
- Togawa H., Shinkai S., Mizutani T. Drug Metab Lett. 2008. V. 2. P. 231–237.
- Usman F., Diala U.M., Shapiro S.M., Le Pichon J.B., Slusher T.M. Res. Reports Neonatology. 2018. V. 8. P. 33–44.
- Wang X., Chowdhury J.R., Chowdhury N.R. Curr. Paediatrics. 2006. V. 16. P. 70–74.
- Weiner C.P. Am. J. Obstet. Gynecol. 1992. V. 166. No. 5. P. 1449–1454.
- Zibera L., Martelanc M., Franko M., Passamonti S. Scientific Reports. 2016. V. 6. P. 29240.

МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИИ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ *IN VIVO* И ЗАЩИТЫ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОТСЛОЙКЕ СЕТЧАТКИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ У ХВОСТАТЫХ АМФИБИЙ

Маркитантова Ю.В., Дашенкова Н.О., Труфанов С.К., Новикова Ю.П., Симирский В.Н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Резюме. Обобщена информация о ранних клеточных и молекулярных событиях, после экспериментальной отслойки ретиального пигментного эпителия (РПЭ) и нейральной сетчатки (НС) хвостатых амфибий (Urodela). Разобщение связи РПЭ с фоторецепторами НС приводит к регенерации сетчатки у амфибий, через этап репрограммирования клеток РПЭ *in vivo* (трансдифференцировки), а у млекопитающих – к патологии РПЭ, отслоению, пролиферативной витреоретинопатии (ПВР), дегенерации сетчатки. Сравнение РПЭ позвоночных, с разными регенерационным потенциалом, демонстрирует сходство раннего ответа клеток, вызванного дезинтеграцией РПЭ-НС окислительным стрессом (ОС). Помимо универсальности реакций РПЭ позвоночных на действие ОС, выявлены филогенетические особенности, затрагивающие организацию генома, экспрессию ОС-чувствительных факторов транскрипции, которые вносят вклад в регуляцию поведения РПЭ.

Ключевые слова: пигментный эпителий сетчатки, эндогенная система защиты, стабильность дифференцированного состояния РПЭ, активные формы кислорода, мишени окислительного стресса, ОС-чувствительные факторы транскрипции, дедифференцировка, пролиферация, стратегии конверсии РПЭ

MECHANISMS INITIATING OF RETINAL PIGMENTED EPITHELIUM REPROGRAMMING AND ITS RESCUE AFTER EXPERIMENTAL DETACHMENT OF RETINA UNDER CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS IN URODELA

Markitantova Yu.V.

Koltsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences,

Resume. In the studies we have summarized the information obtained on the early cellular and molecular events taking place after experimental detachment of neural retina (NR) from retinal pigmented epithelium (RPE) in the Urodela eye. RPE-NR disintegration leads to recovery NR by RPE cell type natural reprogramming *in vivo* (transdifferentiation) in amphibians. While in mammals it brings a beginning of retinal disease, retinal detachment and PVR. A comparison made on the different models shows a similarity of early cell behavior and molecular processes induced by RPE-NR disintegration and oxidative stress. In addition to the universality reactions at the cellular and gene levels, the differences in genome organization have been identified that reflect cellular and phylogenetic features in RPE cells of the adult newt. Phylogenetic features are identified that associated to the organization and regulation the expression of oxidative-sensitive transcription factors that contribute to RPE behavior strategies.

Key words: retinal pigment epithelium, endogenous defense system, stability of RPE differentiated state, reactive oxygen species, oxidative stress targets, OS-sensitive transcription factors, dedifferentiation, proliferation, RPE conversion

Введение. Многие заболевания сетчатки, генетические, ассоциированные с возрастом и/или системными нарушениями, связаны с патологиями ретиального пигментного эпителия (РПЭ), нарушениями взаимодействий РПЭ и нейральной сетчатки (НС) [1]. Разобщение РПЭ и фоторецепторов НС сопровождается окислительным стрессом (ОС), активирует механизмы защиты, приводящие к разному клеточному ответу [2]. Среди стратегий ответа клеток РПЭ большой интерес представляет изучение механизмов репрограммирования дифференцированных клеток *in vivo*. Процесс естественного репрограммирования (трансдифференцировки) РПЭ в нейроны и глию сетчатки – феномен, который лежит в основе восстановления всех слоев сетчатки у взрослых хвостатых амфибий (Urodela) [3]. Разобщение связи РПЭ-НС у этих животных приводит к ремоделированию цитоскелета в РПЭ, отражая изменения в клеточном микроокружении. У млекопитающих, при нарушении взаимодействий РПЭ с фоторецепторами сетчатки, развивающийся ОС служит причиной нарушения стабильности дифференцировки и патологической конверсии клеток РПЭ, эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП) [4,5]. При экспериментальном моделировании ЭМП фенотипа РПЭ у млекопитающих, также обнаружено

ремоделирование цитоскелета, характерно при пролиферативной витреоретинопатии и отслойке сетчатки и РПЭ [6]. Большинство генов, мутации в которых приводят к ОС-зависимым патологиям сетчатки, кодируют факторы транскрипции (ТФ) и характеризуются специфической экспрессией в РПЭ и фоторецепторах [1]. ОС активирует в клетках эндогенную систему защиты, центральную роль в механизмах ее активации играют факторы транскрипции NRF (NuclearfactorE2 p45-RelatedFactors). Они индуцируют экспрессию генов-мишеней, взаимодействуя с их цис-регуляторными последовательностями. В числе этих мишеней – гены, кодирующие ТФ, белки-шапероны, ферменты Nox2, Nox4, антиоксиданты (Antioxidant Response Elements, ARE) [7]. Важную роль в механизмах защиты клеток РПЭ играют ТФ Fos, Pax6, Mitf, Otx, Pitx, участвующие в стабилизации дифференцировки РПЭ, за счет регуляции процессов меланогенеза, пролиферации, аутофагии др. [8,9]. Система эндогенной защиты этих клеток является эволюционно консервативным защитным механизмом от ОС [10]. Однако, ОС может играть как негативную, так и позитивную роль, например в регенерации нейронов мозга у тритонов [11]. Исследования клеток РПЭ низших (амфибий, рыбы), обладающих высокими потенциями к регенерации сетчатки и высших (млекопитающие) позвоночных животных, в условиях экспериментально моделируемой патологии (отслойка, действие ОС) [12,13], вносят вклад в понимание механизмов систем защиты, поддержания стабильности дифференцировки клеток РПЭ, а также ассоциированных с РПЭ патологий глаза человека.

Цель. Исследования ориентированы на выявление особенностей клеток РПЭ у разных позвоночных, характеристику структуры и экспрессии регуляторных генов, сигнальных путей, через которые реализуется ответ клеток РПЭ, при повреждении/патологии нейральных тканей глаза. Основные задачи работы состоят в характеристике свойств РПЭ хвостатых амфибий, изучении ответа клеток РПЭ (на клеточном и геномном уровне) на действие ОС, при отслойке РПЭ и фоторецепторов, выявлении связи ОС с эндогенными регуляторными системами защиты клеток.

Материалы и методы. Предметом исследования являются клетки РПЭ взрослых тритонов (*Urodela*), с применением моделей *in vivo* экспериментально вызванной механической отслойки, и *in vitro* 3D-*in vitro*. Эксперименты проводили на тритонах *Pleurodeles waltl* (6 мес.), в соответствии с правилами, утвержденными комиссией по биотнике ИБР РАН им. Н.К. Кольцова. Для анестезии применяли трикаинметансульфонат MS 222 (Sigma, США) в 0,65% физиологическом растворе NaCl (1:1000), после проводили отслойку сетчатки. Проведено исследование ответа клеток РПЭ *in vivo*, а также модели органотипического культивирования РПЭ в системе 3D-*in vitro*, при экзогенном воздействии пероксида водорода, агонистов пуриnergических рецепторов (АТФ, АДФ). Ткани культивировали в минироллере RM-1 (Elmi, Латвия). Состав среды: бидистиллированная вода (30%), 199 (70%), 1M буфер HEPES (30 мл/100 мл), гентамицин сульфат (200 мкг/100 мл среды), 10% фетальная телячья сыворотка (Hyclon, США). Для решения этой задачи также была разработана методика работы на суспензионных культурах клеток. Для регистрации ответа клеток РПЭ, на действие пероксида водорода в диапазоне разных доз, использовались флуоресцентно меченые зонды (H2DCF-DA, Trocrist; DHE, Sigma). Регистрация ответа клеток РПЭ производилась с использованием планшетного флуориметра, флуоресцентной микроскопии, на микроскопе Leica DM RXA2. РНК выделяли реагентом TRI (MRC, США), обрабатывали DNase Turbo (Ambion, США). ДНК синтезировали с помощью набора Omniscript RT Kit (Qiagen, Германия). Праймеры конструировали с помощью программы Beacon Designer 7.2, и баз данных нуклеотидных последовательностей для амфибий (NCBI, Sal-Site, <http://antler.is.utsunomiya-u.ac.jp/imorei>, [14]). мРНК регуляторных генов в РПЭ выявляли с помощью полуквантитативной полимеразной цепной реакции (ПЦР), на приборе Mastercycler Personal (Eppendorf, Германия). Оценку уровня экспрессии генов проводили с помощью ПЦР в реальном времени (qPCR), с использованием набора HSSybr+HighROX (Evrogen) и системы Applied Biosystems StepOnePlus. Нормировку проводили по экспрессии определенных для данной панели относительно стабильно экспрессирующихся референсных генов. Расчет относительных количеств (RQ) для каждого гена в образце в рамках цикла нормализованных по эталонному гену, проводили методом $\Delta\Delta Ct$. В программе STATISTICA определяли статистическую значимость различий между наблюдаемыми и контрольным (1,0) значением, с помощью t-критерия для одного образца.

Результаты и обсуждение. Процесс регенерации осуществляется под контролем генного и системного уровней регуляции. Многие из регуляторных факторов, контролирующие ранние клеточные события, после отслойки РПЭ и сетчатки, известны, однако, этот список далек от полного. В работе изучена реакция клеток РПЭ взрослого тритона в ответ на воздействие диапазона концентраций экзогенного пероксида водорода H2O2, агонистов пуринорецепторов АТФ, АДФ, с целью дальнейших исследований глобальных изменений на уровне транскриптома. Изучена динамика экспрессии генов, кодирующих ОС-чувствительные факторы транскрипции (ТФ) *Pax6*, *Otx2*, *Pitx1*, *Pitx2* на начальных стадиях

репрограммирования РПЭ, после экспериментально вызванной отслойки РПЭ и сетчатки. Эти ТФ являются известными компонентами сети «генов глазного поля», участвующими в контроле дифференцировки РПЭ и нейронов сетчатки при регенерации [3,4]. Обнаружено снижение экспрессии регуляторов меланогенеза *Otx2*, *Rax6*, на ранней стадии репрограммирования (2-4 сутки), когда происходит перестройка работы аппарата синтеза белков, обеспечивающего стабилизацию дифференцировки клеток РПЭ в норме. Эти изменения сопровождаются снижением уровня экспрессии *Entpd2*, фермента, осуществляющего конвертацию АТФ в АДФ. Известно, что метаболические нарушения РПЭ при ОС могут приводить к глубоким изменениям внутриклеточного и внеклеточного уровня нуклеотидов, развитию патологических процессов [15]. Низкий уровень экспрессии *Entpd2*, вероятно, отражает снижение внутриклеточного уровня АТФ в клетках РПЭ тритона на ранних стадиях репрограммирования, как составляющей механизмов эндогенной защиты. На поздних стадиях, когда начинается процесс ре-дифференцировки клеток РПЭ, уровень экспрессии генов *Rax6*, *Otx2* возрастает. Ранее мы обнаружили возрастание экспрессии этих генов и кодируемых ими белков на стадии формирования и активной пролиферации нейробластов регенерирующей сетчатки тритона [4]. Интересно, что экспрессия регуляторов меланогенеза ТФ *Pitx1* и *Pitx2* усиливается на ранней стадии репрограммирования РПЭ, по сравнению с нативным РПЭ. Выявлена корреляция уровней экспрессии генов *Pitx* и пуринорецепторов *P2Y1*. После отслойки в РПЭ, также изменяется характер экспрессии генов, кодирующих белки теплового шока (HSPs), определенный набор которых конститутивно экспрессируется в клетках, выполняющих функции шаперонов.

В целом, картина динамики экспрессии анализируемых генов ТФ при отслойке РПЭ, демонстрирует сохранение отдельных молекулярных свойств этими клетками (наряду с редкими гранулами меланина) на начальной фазе репрограммирования. Это отражает возможности входаспециализированных клеток РПЭ в фазу синтеза ДНК, элиминации основного специфического признака – пигментации, и сохранения при этом биохимических составляющих для ресинтеза пигмента, при возобновлении меланогенеза. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии необходимости быстрой и полной элиминации исходных специфических свойств РПЭ для выхода в иную программу развития. Репрограммирование клеток РПЭ тритона с большой вероятностью регулирует набор ТФ, состоящих как в кооперативных (синергисты), так и в конкурентных (антагонисты) взаимодействиях. Предполагается, что клетками РПЭ поддерживаются молекулярные процессы, ответственные как за ингибирование, так и за усиление работы генов, определяющих репрограммирование *in vivo* (трансдифференцировку), в ответ на повреждение и действие ОС, который рассматривается в качестве фактора поддержания репрограммирования РПЭ взрослого тритона. В числе активаторов репрограммирования – сигнальные молекулы (*Fgf*, *Wnt* и др.) [4], а ответ на их действие регулируется на разных уровнях: транскрипционном и характеризуется таксон-специфическими особенностями организации генома, в частности, ОС-чувствительных ТФ, эпигенетическом (модификаторы состояния хроматина, различные виды некодирующих РНК). Генный портрет клеток нативного РПЭ тритона, сочетает экспрессию регуляторов дифференцировки и мультипотентности, что, очевидно, облегчает репрограммирование РПЭ в типы клеток сетчатки [4]

После разобщения межклеточных связей РПЭ и НС у хвостатых амфибий млекопитающих, в ответ на ОС, происходят изменения, затрагивающие все уровни эндогенной защиты клеток. Центральную роль в активации эндогенной системы защиты клеток РПЭ играют ОС-чувствительные факторы транскрипции, которые контролируют важные процессы (пролиферация, гибель клеток, аутофагия и другие процессы). Получена информация о ранних сигнальных и транскрипционных событиях (характеристика транскриптома, протеома) для РПЭ млекопитающих и человека [16,17]. Внедавно опубликованной работе, проведено исследование изменений транскриптома РПЭ человека (ARPE-19) в ответ на моделируемый ОС, после действия пероксида водорода. Транскрипционное профилирование выявило в РПЭ активацию ОС-чувствительных генов, кодирующих онкогены, ТФ, участвующие в репаративных процессах, аутофагии, регуляции апоптоза и некроза [17]. Определен ряд ОС-зависимых генов, которые принимают участие в контроле дифференцировки и пластичности клеток РПЭ. Анализ имеющейся литературы позволяет сделать предположение о том, что ОС служит позитивным фактором, поддерживающим *in vivo* процесс естественного репрограммирования РПЭ в нейроны и глию, с восстановлением сетчатки взрослых тритонов. Предполагается, что анализируемые в работе ТФ поддерживают процесс репрограммирования клеток РПЭ и регенерации сетчатки *Urodela*.

С использованием биоинформационных методов были обнаружены потенциальные редокс-чувствительные сайты связывания (ARE) генов, участвующих в антиоксидантной защите клеток [7]. В работе также проведен филогенетический анализ трех звеньев антиоксидантной системы у млекопитающих: активатора (фактор транскрипции NRF2), эфлятора (ТФ

Pitx1) и потенциальных энхансеров (ARE) в пределах 5 kb-области от сайта начала транскрипции гена Pitx1. Получены данные, которые позволяют предположить наличие эволюционной адаптивности системы антиоксидантной защиты, основанной на взаимодействии NRF2 и Pitx1, и вторичные звенья этой системы, не всегда эволюционируют синхронно.

Заключение. При сходстве важных звеньев клеточных и молекулярных процессов, действие которых направлено на защиту клетки от стресса, существуют эволюционно закрепленные функциональные различия, которые определяют выбор стратегий поведения клеток РПЭ позвоночных. Выявление «молекулярных участников» и сигнальных путей, опосредующих пролиферативные и антипролиферативные эффекты и понимание их роли актуально, поскольку, в обоих случаях – в транскрипционной регуляции клеток РПЭ при регенерации НС у хвостатых амфибий, и таковой, вызванной отслойкой и развитием ПВР у млекопитающих имеют место фенотипические изменения клеток РПЭ и их пролиферация. Знание механизмов конверсии РПЭ позволит дать объяснение, почему сходные и универсальные защитные механизмы, работающие в РПЭ и окружающих тканях при отслойке (удалении) НС, дают столь контрастирующие финальные результаты – регенерацию сетчатки у хвостатых амфибий и ее патологию у млекопитающих. Очевидно, что причины разных ответов РПЭ, после разобщения связи с фоторецептормилежат в различиях структуры генома, регуляции на разных уровнях (транскриптома и эпигенетики). Понимание механизмов (причин) разных ответов позволяет оценить перспективы использования эндогенного регенерационного потенциала, эффективные пути для стабилизации дифференцировки гомеостаза РПЭ, с целью предотвращения дегенерации сетчатки и сохранения функции зрения у высших позвоночных.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-25-00835, с использованием оборудования ЦКП ИБР РАН.

Список литературы

1. [Markitantova Y., Simirskii V.](#) Inherited Eye Diseases with Retinal Manifestations through the Eyes of Homeobox Genes // *Int J. Mol. Sci.* 2020 Feb 26. 21(5):1602
2. Markitantova Yu.V., Simirskii V.N. Role of the Redox System in Initiation of a Regenerative Response of Neural Eye Tissues in Vertebrates // *Russ. J. Dev. Biol.* 2020. V. 51. №1. P. 16-30
3. Chiba Ch., Mitashov V. Cellular and molecular events in the adult newt retinal regeneration // *Review Book "Strategies for Retinal Tissue Repair and Regeneration in Vertebrates: from Fish to Human"*. Ed. Ch. Chiba. Research Singpost. 2007
4. Grigoryan E.N., Markitantova Y.V. Cellular and Molecular Preconditions for Retinal Pigment Epithelium (RPE) Natural Reprogramming during Retinal Regeneration in Urodela // *Biomedicines*. 2016. V. 4. № 4. pii: E28. P. 1-18
5. [Barbosa K.Y., Chang J., Lal M., Bharti K.](#) The Role of Oxidative Stress Pathway in RPE Epithelial to Mesenchymal Transition // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017. V. 58. P. 3010
6. Casaroli-Marano R.P., Pagan R., and Vilaro S. Epithelial–Mesenchymal transition in proliferative vitreoretinopathy: intermediate filament protein expression in retinal pigment epithelial cells // *IOVS*. 1999. V. 40. №9. P. 2062-2072
7. Raghunath A., Nagarajan R., Sundarraj K. et al. Genome-wide identification and analysis of Nrf2 binding sites – Antioxidant response elements in zebrafish // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* // 2018. V. 360. P. 236-248
8. L'honore A., Commere P.-H., Ouimette J.-F. et al. Redox Regulation by Pitx2 and Pitx3 Is Critical for Fetal Myogenesis // *Dev. Cell*. 2014. V. 29. P. 392-405
9. Yang Y., Li X., Wang J. et al. A missense mutation in Pitx2 leads to early-onset glaucoma via NRF2-YAP1 axis // *Cell Death Dis.* 2021. V. 12. Article 1017
10. Fuse Y., Kobayashi M. Conservation of the Keap1-Nrf2 System: An Evolutionary Journey through Stressful Space and Time // *Molecules*. 2017. V. 22. Article 436
11. Hameed L.S., Berg D.A., Belnoue L. et al. Environmental changes in oxygen tension reveal ROS-dependent neogenesis and regeneration in the adult newt brain // *Elife*. 2015. V. 20. № 4. Article ID e08422. P. 1-16.
12. Martini B. Proliferative vitreoretinal disorders: experimental models in vivo and in vitro // *Acta Ophthalmol. Suppl.* 1992. V. 201. P. 1-63
13. Huang B., Liang J.-J., Zhuang X. et al. Intravitreal Injection of Hydrogen Peroxide Induces Acute Retinal Degeneration, Apoptosis, and Oxidative Stress in Mice // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi. V. 2018. Article ID 5489476. P. 10
14. Elewa A., Wang H., Talavera-López C., Joven A., Brito G., Kumar A., Hameed L.S., Penrad-Mobayed M., Yao Z., Zamani N., Abbas Y., Abdullayev I., Sandberg R., Grabberr M., Andersson B., Simon A. Reading and editing the Pleurodeles walli genome reveals novel features of tetrapod regeneration // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. № 1. 2286

15. Loukovaara S., Sahanne S., Jalkanen S. et al. Increased intravitreal adenosine 5'-triphosphate, adenosine 5'-diphosphate and adenosine 5'-monophosphate levels in patients with proliferative diabetic retinopathy // Acta Ophthalmol. 2015. V. 93. P.67–73
16. Senabouth A., Daniszewski M., Lidgerwood G.E. et al. Transcriptomic and proteomic retinal pigment epithelium signatures of age-related macular degeneration // NATURE COMMUNICATIONS. 2022.13:4233
17. Shao Z., ChwaM., Atilano Sh.R. et al. The Transcriptome Profile of Retinal Pigment Epithelium and Müller Cell Lines Protected by Risuteganib Against Hydrogen Peroxide Stress // J Ocul Pharmacol Ther. 2022. V. 00. N. 00. 2022 Mary Ann Liebert Inc.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ НЕОКИСЛЕННЫХ И ОКИСЛЕННЫХ БИСРЕТИНОИДОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ В КЛЕТКАХ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Яковлева М.А.¹, Островский Д.С.², Хубецова М.Х.², Борзенко С.А.²,
Фельдман Т.Б.^{1,3}, Островский М.А.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, ул.Косыгина, 4

²ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени С.Н. Федорова, 127486 Москва, Бескудниковский бульвар, 59а

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, 119234 Москва, Ленинские горы, 1

Абстракт

Липофусциновые гранулы (ЛГ) в клетках ретиального пигментного эпителия (РПЭ) глаза человека содержат бисретиноиды - флуорофоры, способные при поглощении видимого света генерировать активные формы кислорода с образованием, в конечном итоге, окисленных продуктов (окси-БисРет). В состав окси-БисРет входят альдегиды и кетоны, способные диффундировать из ЛГ в цитоплазму клетки РПЭ и модифицировать белковые молекулы уже в отсутствие света. Целью настоящего исследования было определение механизмов развития апоптоза при цитотоксическом воздействии активных соединений в составе ЛГ на клетки РПЭ после их облучения видимым светом и последующей темновой адаптации. Были проведены эксперименты по исследованию цитотоксических свойств окси-БисРет в темновых условиях с использованием клеточной культуры АРПЭ-19, нагруженной ЛГ. Сравнительный анализ исходных образцов и предварительно облученных видимым светом показал, что в обоих случаях в клетках РПЭ после темновой адаптации в течение 4-х суток запускается апоптоз как по митохондриальному, так и по каспазному пути, однако в случае предварительно облученных образцов с более высоким содержанием окси-БисРет этот процесс проходит заметно интенсивнее. Таким образом, можно предположить, что окси-БисРет оказывают цитотоксическое воздействие на клетку РПЭ в отсутствие света и могут рассматриваться как усугубляющий фактор прогрессирования возрастной макулярной дегенерации.

Ключевые слова: липофусциновые гранулы, клетки АРПЭ-19, бисретиноиды, продукты фотоокисления и фотодеградации, апоптоз.

Comparative study of cytotoxic properties of non-oxidized and oxidized bisretinoids of lipofuscin granules in retinal pigment epithelium cells

M.A. Yakovleva¹, D.S. Ostrovsky², M.Kh. Khubetsova², S.A. Borzenok², T.B. Feldman^{1,3},

M.A. Ostrovsky^{1,3}

¹Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Biochemical Physics named after N.M. Emanuelya RAN, 119334 Moscow,
Kosygin st., 4

²FGAU MNTK "Eye Microsurgery" named after S.N. Fedorova, 127486 Moscow, Beskudnikovsky boulevard, 59a

³MGU im. M.V. Lomonosov, Faculty of Biology, 119234 Moscow, Leninskiye Gory, 1

Abstract

Lipofuscin granules (LG) in the cells of the retinal pigmental epithelium (RPE) of the human eyes contain bisretinoids - fluorophores that can generate active forms of oxygen with the formation, ultimately, oxidized products (oxy-BisRet) when absorbing visible light. The composition of oxy-BisRet includes aldehydes and ketones that can diffuse from LG to the cytoplasm of the RPE cell and modify protein molecules already in the absence of light. The purpose of this study was to determine the mechanisms of the development of

apoptosis with the cytotoxic effects of active compounds in the composition of LG on RPE cells after their exposure with visible light and subsequent dark adaptation. Experiments were conducted on the study of the cytotoxic properties of oxy-BisRet in dark conditions using the ARPE-19 cell culture, loaded LG. A comparative analysis of the source samples and previously irradiated by visible light showed that in both cases in RPE cells after dark adaptation, apoptosis is launched both along the mitochondrial and caspasic path, however, in the case of pre-irradiated samples with a higher content oxy-BisRet this process is noticeably more intense. Thus, it can be assumed that oxy-BisRet has a cytotoxic effect on the RPE cell in the absence of light and can be considered as an exacerbating factor in the progression of age-related macular degeneration.

Keywords: lipofuscin granules, ARPE-19 cells, bisretinoids, photooxidation and photodegradation products, apoptosis

Введение.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является одним из наиболее распространенных заболеваний среди пожилых людей [1]. Одним из маркеров развития патологии сетчатки, в том числе ВМД, является более интенсивное накопление липофуциновых гранул (ЛГ) в клетках ретиального пигментного эпителия (РПЭ) по сравнению с нормой [2, 4, 5]. ЛГ являются продуктами неполной лизосомальной деградации обломков наружных сегментов палочек сетчатки (НСП) [3]. В состав ЛГ входят бисретиноиды (БисРет) – продукты модификации полностью-*транс*-ретинала (ПТР) [6]. Наиболее изученным из них является N-ретинолиден-N-ретилилэтанолламин (A2E) [7]. БисРет в ЛГ являются фотоиндуцируемыми генераторами активных форм кислорода (АФК) [8], которые, в свою очередь могут окислять БисРет (окси-БисРет) с образованием высокореактивных альдегидов и кетонов [9, 10]. Окси-БисРет обладают гидрофильными и амфифильными свойствами, что позволяет им диффундировать через мембрану ЛГ в цитоплазму клетки РПЭ [11]. Поскольку карбонильные продукты являются долгоживущими, они могут прочно связываться с долгоживущими белками, такими как коллаген [12] или гемоглобин [13], что приводит к образованию конечных продуктов гликирования, которые могут активировать воспалительные процессы. Результаты наших экспериментов *in vitro* [14-15] показали, что водорастворимые карбонильные продукты, образующиеся при фотоокислении БисРет, приводят к образованию модифицированных белков, что также указывает на то, что окси-БисРет могут приводить к повреждению клеточных структур и, в конечном итоге, гибели клетки РПЭ. Целью данной работы было выяснение механизмов цитотоксического воздействия окси-БисРет на клетку РПЭ. Эксперименты проводили с использованием клеточной культуры АРПЭ-19, нагруженной ЛГ, полученных из клеток РПЭ кадаверных глаз человека. В предыдущей работе [16] нами было показано, что после воздействия света на клетки АРПЭ-19 с ЛГ и последующей темновой адаптации происходит их гибель. Можно предположить, что одним из механизмов клеточной гибели является развитие апоптоза. Известно два основных пути апоптоза клеток РПЭ – митохондриальный и каспазный. Для выяснения механизма развития апоптоза в качестве стандартных маркеров каспазного пути использовали каспазу 7 (экзекюторная) и 8 (иницирующая), а митохондриального – BAX [17].

Материалы и методы.

Материал. Кадаверные глаза человека были получены Глазным тканевым банком ФГАУ «НМИЦ»МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» от доноров из танатологических отделений московского бюро судебно-медицинской экспертизы на основании действующего договора между московским бюро судебно-медицинской экспертизы и ФГАУ «НМИЦ»МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, а также договора о научном сотрудничестве между ИБХФ РАН и ФГАУ «НМИЦ»МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» [18].

Выделение липофуциновых гранул и получение хлороформных экстрактов бисретиноидов и их производных. ЛГ были выделены из РПЭ 100 кадаверных глаз доноров возраста 50-75 лет без признаков патологии согласно методике, описанной в работе [19]. Бисретиноиды и их производные экстрагировали из ЛГ по методу Фолча смесью хлороформ–метанол (1:1) [20].

ВЭЖХ-анализ. Хроматографическое разделение бисретинонидов и продуктов их фотоокисления и фотодеградации в хлороформных экстрактах ЛГ из РПЭ проводили на хроматографе фирмы «Кнауер» (Германия) с колонкой «Kromasil-100-5-C18» (4x250 мм, размер сорбента 5 мкм). Разделение осуществляли согласно методу, описанному в работе [10].

Синтез А2Е. В качестве стандарта использовали синтезированный А2Е [21]. Чистоту образца контролировали методом ВЭЖХ.

Культура клеток АРПЭ-19. Была использована клеточная линия АРПЭ-19, предоставленная УНУ "Коллекция клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований (общебиологического и биомедицинского направления)" Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. На всех этапах работы культивирование проводили в полной ростовой среде (РРС) согласно стандартной методике (<https://www.atcc.org/products/crl-2302>). Фагоцитоз ЛГ клетками АРПЭ-19 осуществляли по методике, описанной в работе [22]. Для анализа на проточном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США) клетки обрабатывали раствором ацутази по стандартному протоколу. Анализ образцов на электронном сканирующем микроскопе проводили со следующими параметрами: высокий вакуум, ускоряющее напряжение 15kV, увеличение x1000. Для изучения образцов на конфокальном лазерно-сканирующем микроскопе образцы фиксировались 10% раствором формалина в течение 1 часа при комнатной температуре в темноте. Анализ на конфокальном микроскопе Olympus FV10i (Olympus, Япония) производили при использовании каналов Alexa Fluor 488 и Alexa Fluor 594. Облучение образцов осуществляли видимым светом (430-570 нм) в течение 18 часов лампой Led15w - 4000K (0,38 мВт/см2).

Тесты на жизнеспособность клеток

Тест «Живые и мертвые». Для качественного и количественного анализа все образцы клеток АРПЭ-19 окрашивали флуоресцентным красителем Live and Dead (ab 115347 Abcam, Кембридж, Великобритания) в соответствии с протоколом, представленным производителем. Для количественного анализа суспензию клеток РПЭ получали путем ферментативного удаления клеток с последующим анализом на проточном цитофлуориметре (CytoFlex, Beckman Coulter, Калифорния, США) с использованием канала обнаружения FITC (Ex 493 нм/Em 528 нм) и Cy3 (Ex 550 нм/Em 615 нм).

МТТ-тест. Анализ МТТ проводили в соответствии с протоколом (<https://www.abcam.com/mtt-assay-kit-cell-proliferation-ab211091.html>) на спектрофотометре Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Поглощение измеряли на длине волны 570 нм и нормализовали по отношению к поглощению контрольного образца (клетки РПЭ без ЛГ) и выражали как жизнеспособность в процентах от поглощения контроля.

Апоптоз. Для определения путей развития апоптоза были использованы антитела к Каспазе 8, 7 и ВАХ, по стандартному протоколу окрашивания, с последующим анализом на проточном цитофлуориметре.

ДНК-кометы. Клеточную культуру готовили по стандартной методике. Отрицательный контроль - клетки АРПЭ-19 без ЛГ, подвергшиеся облучению УФ-светом, согласно стандартной методике. Полученные препараты переносили в щелочной раствор (рН>13) для проведения электрофореза. Для окрашивания использовали раствор этидиума бромид. Анализ препаратов проводили при помощи лазерного сканирующего конфокального микроскопа Olympus FV10i. Полученные изображения анализировали при помощи встроенного программного обеспечения микроскопа.

Статистический анализ. Программное обеспечение GraphPad™ Prism 6 (GraphPad Software Inc., Ла-Хойя, Калифорния, США) использовали для создания графиков и расчета уровней значимости. Уровни значимости рассчитывали с помощью дисперсионного анализа (двухсторонний ANOVA). Значения вероятности $p < 0.05$ считались статистически значимыми.

Результаты.

Для изучения цитотоксического воздействия ЛГ на клетки АРПЭ-19 было сформировано 2 группы образцов. Первая группа содержалась в темноте в течение всего эксперимента, а вторая была облучена видимым светом в течение 18 часов, а потом содержалась 4 суток в темноте после воздействия света. В каждой группе был контрольный образец АРПЭ без ЛГ и образец АРПЭ, нагруженный ЛГ.

МТТ анализ жизнеспособности клеток.

Полученные результаты показали, что в образцах АРПЭ, как контрольных, так и с ЛГ через 4 суток темновой адаптации наблюдается гибель клеток (Таблица 1). Однако в случае предварительно облученных образцов в течение 18 часов в образцах АРПЭ с ЛГ степень гибели клеток АРПЭ возрастает (Таблица 1).

Таблица 1. Сравнительный МТТ анализ жизнеспособности клеток РПЭ темноадаптированных и предварительно облученных видимым светом.

Время инкубации в темноте	Первая группа		Время инкубации	Вторая группа	
	Образцы, содержащиеся в темноте (%)			Образцы, облученные видимым светом 18 часов (%)	
	Контроль РПЭ без ЛГ	ЛГ-РПЭ		Контроль РПЭ без ЛГ	ЛГ-РПЭ
18 часов	100.0±28.3	71.8±16.0	0 дней	100.0±33.4	67.8±16.4
4 дня	100.0±24.9	77.4±17.8	4 дня	100.0±15.3	53.8±15.9

*Данные представлены как mean±SD от трех независимых экспериментов, P < 0.05.

Анализ повреждения клеточных структур методом ДНК-комет.

Методом ДНК-комет был определен уровень повреждения ДНК в единичных клетках и рассчитан коэффициент повреждения. На рисунке 1 представлены данные для каждого образца в виде соотношения количества повреждений в клетках на 4 день темновой адаптации к первому дню. Из полученных результатов видно, что присутствие ЛГ в клетках АРПЭ увеличивает количество повреждений ДНК. При этом наибольший эффект наблюдается в образцах, предварительно облученных видимым светом в течение 18 часов (Рисунок 1). Другими словами, в клетках с повышенным содержанием окиси-ЛГ через 4 суток темновой адаптации наблюдается самый высокий процент повреждения ДНК. Полученные результаты коррелируют с данными работы [23] о темновом повреждении ДНК продуктами окисления А2Е, а также подтверждает наши предположения о том, что альдегиды, образующиеся при окислении БисРет, будучи гидрофильными соединениями, диффундируют из ЛГ в цитоплазму клетки АРПЭ и повреждают клеточные структуры уже без участия АФК и света, проявляя цитотоксичные свойства.

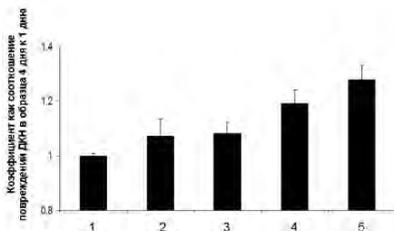


Рисунок 1. Диаграмма распределения индекса ДНК-комет в образцах на 4 сутки темной адаптации по сравнению с исходным состоянием. 1 – отрицательный контроль (АРПЭ без ЛГ+UV свет); 2 – контроль (АРПЭ без ЛГ) после 4 суток темновой адаптации; 3 – контроль (АРПЭ без ЛГ), предварительно облученный в течение 18 часов видимым светом, а затем темноадаптированный в течение еще 3 суток; 4 – образец АРПЭ с ЛГ после 4 суток темновой адаптации; 5 – образец АРПЭ с ЛГ, предварительно облученный в течение 18 часов видимым светом, а затем темноадаптированный в течение еще 3 суток.

Анализ путей апоптоза

Для определения механизма развития апоптоза в клетках АРПЭ после цитотоксического воздействия окси-БисРеть было проанализировано наличие маркеров двух путей апоптоза – каспазного (каспаза 7 и 8) и митохондриального (BAH). Данные представлены на рисунке 2 и в таблице 2. Показано, что уже на 1 сутки темновой адаптации в подгруппе клеток АРПЭ с ЛГ наблюдается увеличение уровня каспазы 8, а в предварительно облученных образцах наблюдается увеличение количества каспазы 7 и белков субсемейства BAX (Рисунок 2, таблица 2). В случае воздействия светом на клетки АРПЭ с ЛГ каспаза 7 присутствует сразу в большом количестве, а на 3 день темновой адаптации уровень сохраняется на фоне небольшого снижения числа апоптозных клеток. Кроме того, при действии света процентный вклад каспазы 7 также увеличивается во всех образцах, но с ЛГ значительно больше (в 2-4 раза), чем в контрольном образце клеток АРПЭ без ЛГ.

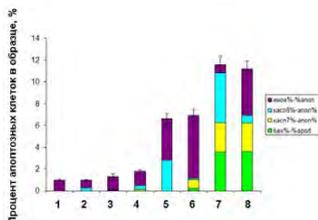


Рисунок 2. Диаграмма распределения факторов апоптоза в клетках АРПЭ-19 до и после добавления ЛГ и влияния светового воздействия. На оси ординат указан процент апоптозных клеток в образце (суммарная высота столбика). Цветом в столбике указан процентный вклад различных факторов апоптоза в данном образце. 1 - контроль клеток в темноте 1 день, 2 - контроль клеток в темноте 4 день, 3 - контроль клеток, облученных 18 часов, 4 - контроль клеток, облученных 18 часов, и затем инкубированных еще 3 суток в темноте, 5 - клетки со встроенными ЛГ в темноте 0 день, 6 - клетки со встроенными ЛГ в темноте 4 день, 7 - клетки со встроенными ЛГ, облученных 18 часов, 8 - клетки со встроенными ЛГ, облученных 18 часов, и затем инкубированных еще 3 суток в темноте.

Спустя 4 суток темновой адаптации в контрольных образцах (АРПЭ без ЛГ) отмечается увеличение вклада каспазы 8, а в контрольной подгруппе после облучения еще и незначительное появление каспазы 7. Однако в образцах клеток АРПЭ с ЛГ, отмечается снижение количество каспазы 8 и увеличение эффекторного белка каспазы 7. Такой результат может свидетельствовать, о запуске необратимого апоптоза в клетках АРПЭ, особенно в образцах клеток АРПЭ с ЛГ, предварительно облученных в течение 18 часов видимым светом (Рисунок 2).

Таблица 2. Распределение процентного содержания факторов апоптоза в клетках АРПЭ-1.

Фактор апоптоза, %	Контроль АРПЭ без ЛГ в темноте	Контроль АРПЭ без ЛГ с облучением 18 часов	Клетки АРПЭ с ЛГ	Клетки АРПЭ с ЛГ с облучением 18 часов
bah - 1 день	0±0	2±0,15	0±0	30.5±1,21
bah - 4 день	0±0	0±0	3±0,92	32±0,51
каспаза8 - 1 день	1.2±0,17	4±0,57	43±1,71	40±1,41
каспаза 8 - 4 день	25±2,01	20±1,29	2±0,75	6.8±0,08
каспаза 7 - 1 день	1±0,05	0±0	0±0	23±2,01
каспаза 7 - 4 день	0±0	6.5±0,65	12±0,85	23±1,25

*Данные представлены как mean±SD от трех независимых экспериментов, P <0.05.

Обсуждение результатов.

Полученные результаты показали, что сразу после воздействия видимым светом в течении 18 часов нарушения в жизнеспособности клеток были незначительны. Однако результат, полученный спустя 4 дня темновой адаптации, показал, что в образцах клеток РПЭ с ЛГ степень гибели клеток гораздо выше в предварительно облученных видимым светом. Можно предположить, что окси-БисРет в составе ЛГ, которые образовались в результате воздействия света, в течение последующих 4 дней темновой адаптации диффундируют из ЛГ в цитоплазму клетки РПЭ и проявляют свои цитотоксические свойства в отношении клеточных структур и макромолекул, инициируя развитие апоптоза. На примере повреждения ДНК показано, что наиболее выраженное повреждение было детектировано в образцах клеток РПЭ с ЛГ, предварительно облученных видимым светом. Эксперименты по исследованию путей апоптоза показали, что спустя 4 суток темновой адаптации в контрольных образцах клеток АРПЭ без ЛГ увеличивается количества каспазы 8, а в случае предварительного облучения – еще и каспазы 7. Однако в образцах клеток АРПЭ с ЛГ, отмечается снижение уровня каспазы 8 и увеличение эффекторного белка каспазы 7. Увеличение уровня эффекторного белка каспазы 7 может свидетельствовать о запуске необратимого апоптоза в клетках АРПЭ, особенно в образцах, содержащих ЛГ и предварительно облученных видимым светом (Рисунок 2).

Таким образом, присутствие ЛГ в клетках АРПЭ само по себе вызывает некие клеточные повреждения в темноте, которые запускают механизм апоптоза, а после воздействия светом степень развития апоптоза значительно увеличивается. Можно предположить, что это связано с образованием окси-БисРет, содержащих высоко реактивные альдегиды и кетоны, которые, обладая гидрофильными свойствами, могут диффундировать из ЛГ в цитоплазму клетки АРПЭ и вызывать повреждение клеточных структур, инициируя запуск необратимого апоптоза. Полученные результаты указывают на развитие несколько путей апоптоза. Первый путь инициируется при воздействии света, в результате чего активируются семейство Bcl-белков и белки субсемства BAX, которые воздействуют на митохондрии. Далее происходит активация каспазы-7, что может привести в свою очередь к фрагментации ДНК и апоптозу. Данный путь апоптоза возникает так же при повреждении ДНК. Второй путь развития апоптоза связан с активацией ранней инициаторной каспазы-8, которая обеспечивает прямую связь между рецепторами клеточной гибели и каспазами. Активация каспазы -8 происходит по так называемому внешнему пути через рецепторы клеточной гибели. Таким образом, в данной работе показано, что ЛГ в клетках АРПЭ в темноте запускают процессы апоптоза, причем, этот процесс усиливается, если на клетки АРПЭ, нагруженные ЛГ предварительно воздействовать видимым светом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом (грант № 22-24-00549).

Список литературы.

1. Nivison-Smith L, Milston R, Madigan M, et al. Age-related macular degeneration: linking clinical presentation to pathology. *Optom Vis Sci* 2014; 91: 832–848.
2. Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable IJ. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye* 1995; 9: 763-771.
3. Feeney-Burns L, Eldred GE. The fate of the phagosome: conversion to 'age-pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1983; 103: 416–421.
4. Holz, F.G.; Pauleikhoff, D.; Klein, R.; Bird, A.C. Pathogenesis of lesions in late age-related macular disease. *Am. J. Ophthalmol.* **2004**, *137*, 504–510.
5. Sparrow, J.R.; Boulton, M.E. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp. Eye. Res.* **2005**, *80*, 595–606.
6. Adler IV L, Chen C, Koutalos Y. All-trans retinal levels and formation of lipofuscin precursors after bleaching in rod photoreceptors from wild type and Abca4 +/- mice. *Exp Eye Res* 2017; 155: 121-127.
7. Sakai, N., Decatur, J., Nakanishi, K., & Eldred, G., et al. (1996). Ocular age pigment "A2-E": an unprecedented pyridinium bisretinoid. *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 1559–1560.

8. Ostrovsky MA, Dontsov AE, Sakina NL, et al. The ability of lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium of the human eye a photosensitized peroxidation lipid by the action of visible light. *Sensor Systems* 1992; 6: 51–54 [in Russian].
9. Wu Y, Yanase E, Feng X, Siegel MM, et al. Structural characterization of bisretinoid A2E photocleavage products and implications for age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 7275–7280.
10. Feldman TB, Yakovleva MA, Arbukhanova PM, et al. Changes in spectral properties and composition of lipofuscin fluorophores from human retinal pigment epithelium with age and pathology. *Anal Bioanal Chem* 2015; 407: 1075–1088.
11. Dontsov, A.E.; Sakina, N.L.; Golubkov, A.M.; Ostrovsky, M.A. Light-induced release of A2E photooxidation toxic products from lipofuscin granules of human retinal pigment epithelium. *Dokl. Biochem. Biophys.* **2009**, *425*, 98–101.
12. Munch, G.; Schickanz, D.; Behme, A.; Gerlach, M.; Riederer, P.; Palm, D.; Schinzel, R. Amino acid specificity of glycation and protein-AGE crosslinking reactivities determined with a dipeptide SPOT library. *Nat. Biotechnol.* **1999**, *17*, 1006–1010.
13. Ott, C.; Jacobs, K.; Haucke, E.; Navarrete Santos, A.; Grune, T.; Simm, A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox. Biol.* **2014**, *2*, 411–429.
14. Yakovleva, M.; Dontsov, A.; Trofimova, N.; Sakina, N.; Kononikhin, A.; Aybush, A.; Gulin, A.; Feldman, T.; Ostrovsky, M. Lipofuscin granule bisretinoid oxidation in the human retinal pigment epithelium forms cytotoxic carbonyls. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 222.
15. Dontsov, A.; Yakovleva, M.; Trofimova, N.; Sakina, N.; Gulin, A.; Aybush, A.; Gostev, F.; Vasin, A.; Feldman, T.; Ostrovsky, M. Water-soluble products of photooxidative destruction of the bisretinoid A2E cause proteins modification in the dark. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 1534.
16. Feldman, T.; Ostrovskiy, D.; Yakovleva, M.; Dontsov, A.; Borzenok, S.; Ostrovsky, M. Lipofuscin-mediated photic stress induces a dark toxic effect on ARPE-19 cells. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022, *23*, 12234.
17. Фрешни Р.Я. Культура животной клетки: практическое руководство // Биним. Лаборатория знаний – 2010 – 253с.
18. Feldman T.B., Yakovleva M.A., Larichev A.V., Arbukhanova P.M., Radchenko A.Sh., Borzenok S.A., Kuzmin V.A., Ostrovsky M.A. Spectral analysis of fundus autofluorescence pattern as a tool to detect early stages of degeneration in the retina and retinal pigment epithelium, *Eye*, **2018**, *32(9)*, 1440-1448.
19. Boulton, M.; Dontsov, A.; Jarvis-Evans, J.; Ostrovsky, M.; Svistunenko, D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 1993, *19*, 201–204.
20. Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497–509.
21. Parish, C.A.; Hashimoto, M.; Nakanishi, K.; Dillon, J.; Sparrow, J. Isolation and one-step preparation of A2E and iso-A2E, fluorophores from human retinal pigment epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 14609–14613.
22. Farrukh A. Shamsi and Mike Boulton. Inhibition of RPE Lysosomal and Antioxidant Activity by the Age Pigment Lipofuscin, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2001, *V. 42*, (12). p. 3041-3046.
23. Sparrow, J.R.; Vollmer-Snarr, H.R.; Zhou, J.; Jang, Y.P.; Jockusch, S.; Itagaki, Y.; Nakanishi, K. A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other antioxidants inhibit A2E-epoxide formation. *J. Biol. Chem.* 2003, *278*, 18207–18213.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ

Серёгина Е.А.^{1,2}, Лесовой С.В.³, Кузнецова Ю.Д.^{3,4}, Поletaев А.В.¹, Гришин В.Л.⁴, Вуймо Т.А.², Порядин Г.В.³, Салмаси Ж.М.³, Балашова Л.М.^{3,4}

¹ ФГБУ «НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева» МЗ РФ, Москва, Россия

² ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России

⁴ НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей

Абстракт:

Введение. Ретинопатия недоношенных (РН) – это вазопрлиферативное заболевание глаз недоношенных детей. Заболевание связано с изменением сосудов и структур глаза. В тяжелых случаях РН ведет к слепоте. При этом выживаемость глубоко недоношенных детей растет. Поэтому встречаемость РН растет вместе с этим. Необходимо учитывать, что для недоношенного ребенка характерны также многофакторные поражения многих систем организма.

Целью нашего исследования было оценить состояние недоношенных с ретинопатией с точки зрения лабораторной диагностики.

Материалы и методы. В исследование включено 17 детей с ретинопатией недоношенных в стадии III-IV (медиана возраста 5 месяцев, возраст гестации 27 недель), 5 детей с риском ретинопатии (медиана возраста 3 месяца, возраст гестации 27 недель), а также в качестве двух контрольных групп 5 доношенных новорожденных с инфекционными осложнениями вне зрительного аппарата (медиана 18 дней, возраст гестации >39 недель) и 5 детей с гемангиомой (медиана возраста 3 месяца, возраст гестации 33,5 недель). Нами исследованы следующие показатели крови: гемоглобин, количество тромбоцитов, гематокрит, количество лейкоцитов, билирубин общий, лактат, глюкоза, АЧТВ, ТВ, ПИ и концентрация фибриногена. Для расчета статистически значимых изменений между группами использован тест Манна-Уитни с уровнем значимости $P < 0,05$.

Результаты. У недоношенных детей с ретинопатией, независимо от стадии заболевания, наблюдается снижение гемоглобина (в среднем 116 ± 18 г/л), в то время как у доношенных детей гемоглобин в норме, несмотря на течение септического процесса (в среднем 149 ± 32 г/л). Показатели тромбоцитов в норме у детей с РН и сравнимы с данными контрольных групп. Повышение лейкоцитов наблюдает у 2 пациентов с РН и риском РН, а также у большинства пациентов с воспалением. Повышение также связано с воспалительными процессами при РН. У недоношенных пациентов с РН повышен лактат, что может свидетельствовать о лактацидозе (в среднем $3,1 \pm 1,9$ ммоль/л норма до 1,6 ммоль/л), который может развиваться у глубоко недоношенных. Лактат также повышен у недоношенных детей с гемангиомами (в среднем $1,9 \pm 0,1$ ммоль/л). С точки зрения системы гемостаза при РН значимо изменены показатели тромбинового времени, а также концентрации фибриногена по сравнению с контрольными группами (в среднем $ТВ = 25,9 \pm 3,3$ секунды, фибриноген $1,9 \pm 0,8$ г/л при РН и $ТВ = 18,9 \pm 1,5$ сек, фибриноген $2,6 \pm 0,6$ г/л в контрольной группе с гемангиомой).

Заключение. Ретинопатия недоношенных – это сложное заболевание, при котором пациенты страдают от порока развития сетчатки глаза. Наше исследование показало, что большое количество лабораторных показателей, биохимии, электролитов, гемоглобин и показатели гемостаза изменены у детей с ретинопатией недоношенных по сравнению с недоношенными пациентами с гемангиомой и доношенными детьми с течением инфекционного процесса.

Ключевые слова. Ретинопатия недоношенных, лабораторная диагностика состояния

LABORATORY DIAGNOSTICS FROM RETINOPATHY OF PREMATURITY

Seregina E.A.^{3,4}, Lesovoy S.V.¹, Kuznetsova J.D.^{1,2}, Poletaev A.V.¹, Vuimo T.A.⁴, Balashova L.M.^{1,2}.

¹N.I. Pirogov Russian National Research University, Ministry of Health of Russia, Moscow

²International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

³ Dmitry Rogachev National Medical Research Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

⁴ Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology RAS, Moscow, Russia

Abstract:

Introduction. Retinopathy of prematurity (ROP) is a vasoproliferative disease of the eyes of premature infants. The disease is associated with changes in the vessels and structures of the eye. In severe cases, ROP leads to blindness. At the same time, the survival rate of deeply premature babies is growing. Therefore, the occurrence of ROP is growing along with this. It should be borne in mind that a premature baby is also characterized by multifactorial lesions of many body systems.

Aim. To investigate the state of children with ROP using laboratory methods.

Materials and methods. Standard coagulation tests (Quick test PT, APTT, fibrinogen, TT)? lactate, total bilirubin, hemoglobin, PLT, WBC, CRP, glucose and hematocrit levels were used to assess the state. 17 children with ROP III-IV were enrolled (median age 5 months), 5 premature children with high risk of ROP (median age 3 months) and as a control groups, 5 children with hemangioma (median age 3 months), 5 full-term children with sepsis (median age 18 days).

Results. In preterm infants with retinopathy, regardless of the stage of the disease, there is a decrease in hemoglobin (average 116 ± 18 g/L), while in full-term infants hemoglobin is normal despite the course of the septic process (average 149 ± 32 g/L). Platelet counts are normal in ROP children and comparable to controls. White blood cell elevation is observed in 2 patients with ROP and ROP risk, as well as in most patients with inflammation. Elevation is also associated with inflammatory processes in ROP. Preterm patients with ROP have elevated lactate, which may indicate lactacidosis (an average of $3,1 \pm 1,9$ mmol/L normal to 1.6 mmol/L), which can develop in deeply preterm patients. Lactate is also elevated in preterm infants with hemangiomas (average $1,9 \pm 0,1$ mmol/L). From the point of view on the hemostasis system, the thrombin time as well as fibrinogen concentrations were significantly changed compared to the control groups (average $TT=25,9 \pm 3,3$ seconds, fibrinogen $1,9 \pm 0,8$ g/L in patients with ROP and $TT=18,9 \pm 1,5$ seconds, fibrinogen $2,6 \pm 0,6$ g/L in the control group with hemangioma).

Conclusions. Retinopathy of prematurity is a complex disease in which patients try to prevent a malformation of the retina. Our study showed that a large number of laboratory scores, biochemistry, electrolytes, hemoglobin and hemostasis scores are altered in infants with retinopathy of prematurity compared to preterm hemangioma patients and full-term infants with the course of the infectious process.

Key words: retinopathy of prematurity, laboratory diagnostics

Введение. Ретинопатия недоношенных (РН) - это пролиферативное заболевание глаз недоношенных детей. Патогенез связан с незрелостью структур глаза, в особенности сетчатки, к моменту рождения. В редких случаях РН может регрессировать самостоятельно, однако в более чем 50% случаев она является прогрессирующим заболеванием, и может приводить к терминальным стадиям и потери зрения у детей [1-3].

Выживаемость недоношенных детей растет с каждым годом. Современные технологии и успехи в неонатологии позволяют выхаживать глубоко недоношенных детей, уже начиная с массы тела всего 450 граммов. В связи с этим в популяции новорожденных в целом растет число детей с РН. Тем не менее у недоношенных ретинопатия встречается примерно в 2 раза чаще, чем у доношенных новорожденных [1-4]. Необходимо учитывать, что для недоношенного ребенка характерны также многофакторные поражения многих систем организма, в том числе неврологическая симптоматика, поражения сердечно-сосудистой системы, поражения системы головного мозга и органа зрения [2-5]. Поэтому лабораторный контроль общего состояния пациентов бывает крайне важным для своевременного принятия решения по соматическому статусу, что напрямую связано с возможностью оперативного лечения РН. Ведь оперативное лечение до сих пор является самым эффективным для в терапии РН.

Клиника и лечение пациентов с ретинопатией недоношенных.

РН также иногда называют ретролентальной фиброплазией и синдромом Терри - заболевание глаза, поражающее недоношенных младенцев. В особенности страдают новорожденные с недоразвитием легких, при котором применяется кислородная терапия в реанимационных отделениях. Считается, что это заболевание вызвано неорганизованным ростом кровеносных сосудов сетчатки, который может привести к рубцеванию и отслоению последней. Течение РН может быть мягким и может разрешаться спонтанно, но в тяжелых случаях это может привести к слепоте. Примерно к четвертому месяцу беременности сетчатка плода начинает развивать активную васкуляризацию. Такое образование кровеносных сосудов, по-видимому, очень чувствительно к количеству подаваемого кислорода. Таким образом,

все недоношенные дети подвержены риску развития РН, и очень низкий вес при рождении является дополнительным фактором риска, также как кислородная токсичность и длительная гипоксия [1-7].

Факторы риска: развитию РН способствуют различные факторы риска [5, 8-9], в том числе

- Недоношенность;
- Токсичное воздействие кислорода;
- Низкий вес при рождении;
- Различные виды инфекций;
- Пороки сердца;
- Анемия;
- Низкий уровень витамина Е.

Во время развития глаза плода кровеносные сосуды растут из центральной части сетчатки наружу. Этот процесс завершается за несколько недель до предполагаемой даты родов. Однако у недоношенных детей процесс не завершен. Если кровеносные сосуды растут нормально, РН не возникает. Если сосуды растут и аномально ветвятся, у ребенка развивается РН. Эти аномальные кровеносные сосуды могут расти из плоскости сетчатки, что может приводить к кровоизлиянию внутри глаза, тогда образуется гемофтальм. Когда кровь и аномальные сосуды реабсорбируются, это может привести к множеству мембран в сетчатке, которые могут ее вытянуть, вызывая отслоение и, в конечном итоге, слепоту. В норме созревание сетчатки протекает внутриутробно, а к 38 неделе гестации медиальная часть сетчатки полностью васкуляризирована, в то время как латеральная часть все еще не полностью [3-6,8,9]. Нормальный рост кровеносных сосудов направлен на относительно низкокислородные участки сетчатки, при этом сосуды остаются в плоскости и не вырастают в стекловидное тело. Если в этот момент образуется избыток кислорода, нормальные кровеносные сосуды деградируют, образуют мембраны и сосуд перестает развиваться, однако за счет мембран начинается растяжение, которые вызывает отслоение сетчатки глаза. Когда избыточная кислородная среда удаляется, кровеносные сосуды снова начинают образовываться, но вырастают в стекловидное тело глаза из сетчатки, приводя к РН [5,8]. Ограничение дополнительного использования кислорода у недоношенных снижает частоту РН, но может повысить риск других системных осложнений, связанных с гипоксией, включая смерть [9].

В международной классификации [10] РН делится на 5 стадий, где РН I может регрессировать самостоятельно до тотальной отслойки сетчатки при РН V.

Почти все дети с РН имеют гестационный возраст 31 неделю или менее (независимо от веса при рождении) или вес при рождении 1250 граммов и менее; эти показания обычно используются для решения вопроса о том, следует ли проводить скрининг ребенка на наличие РН [11,12]. Однако некоторые Медицинские Центры расширяют критерии скрининга на РН для веса при рождении до 1500 граммов [12].

Любой недоношенный ребенок с тяжелыми заболеваниями и осложнениями в перинатальном периоде (респираторный дистресс-синдром, сепсис, переливание крови, внутрижелудочковое кровоотечение, апноэтические эпизоды и т.д.) также нуждается в скрининге на РН [11].

Периферическая абляция сетчатки является основой лечения РН. Разрушение аваскулярной сетчатки осуществляется твердотельным лазерным фотокоагуляционным устройством. Криотерапия, более ранняя методика, в которой разрушение региональной сетчатки проводилось с использованием зонда для замораживания пораженных областей, также была оценена в многоцентровых клинических испытаниях как эффективный способ профилактики и лечения РН. Однако, когда доступно лазерное лечение, криотерапия больше не предпочтительна для обычной аваскулярной абляции сетчатки у недоношенных детей из-за побочных эффектов воспаления и отека. Кроме того, недавние испытания показали, что лечение лазерной коагуляцией на более ранней стадии заболевания дает лучшие результаты [13].

Интравитреальная инъекция бевацизумаба (Авастин) была представлена как лечебная мера при агрессивной задней ретинопатии недоношенных. В клиническом исследовании 2011 года, сравнивавшем бевацизумаб с обычной

лазерной терапией: интравитреальная монотерапия бевацизумабом показала значительную пользу для РН I стадии [14]. Потенциальные преимущества интравитреальной инъекции авастина по сравнению с лазерной терапией включают: снижение необходимого уровня анестезии, сохранение жизнеспособной периферической сетчатки и, возможно, снижение частоты последующей высокой рефракционной ошибки, связанной с дефектами глаза, нарушающими правильную фокусировку луча на сетчатке. Однако безопасность этого нового лечения еще не установлена с точки зрения глазных осложнений, а также системных осложнений. Последние теоретически возможны, поскольку активный ингредиент бевацизумаба не только блокирует развитие аномальных кровеносных сосудов в глазу, но также может предотвращать нормальное развитие других тканей, таких как, например, легкие [14-16].

Цель исследования: Исследовать состояние детей с ретинопатией недоношенныхх точки зрения показателей лабораторной диагностики.

Материалы и методы исследования: В исследование включено 17 детей с ретинопатией недоношенных в стадии III-IV: экстраретинальная фиброваскулярная пролиферация или развитие частичной отслойки сетчатки (7 мальчиков и 10 девочек и возрасте от 2 месяцев до 1,4 года, медиана возраста 5 месяцев), 5 детей с ретинопатией недоношенных в стадии I и риском РН: с регрессом заболевания (3 мальчика и 2 девочки и возрасте от 2 месяцев до 5 месяцев, медиана возраста 3 месяца), а также в качестве двух контрольных групп 5 доношенных новорожденных с инфекционными осложнениями вне зрительного аппарата: 2 мальчика и 3 девочки в возрасте от 8 дней до месяца) и 4 ребенка с гемангиомой (3 мальчика и 1 девочка в возрасте от 1,5 до 7 месяцев). Для расчета статистически значимых изменений между группами использован тест Манна-Уитни с уровнем значимости $P < 0,05$. Нами исследованы следующие показатели крови: гематологические показатели гемоглобин, количество тромбоцитов, гематокрит, количество лейкоцитов, биохимия и электролиты крови: билирубин общий, лактат, глюкоза, а также гемостаз: времена свертывания крови АЧТВ, ТВ, ПВ и концентрация фибриногена.

Результаты.

Средний гестационный возраст группах пациентов с РН III-IV и с риском РН составляет 27 недель, в то время как в группе с гемангиомами – 33,5 недели. Доношенные новорожденные с воспалением имеют гестационный возраст более 38 недель. Средний вес пациентов в группе РН III-IV составляет 712 граммов, с минимум в 580 граммов. Средний вес пациентов в группе риск РН составляет 903 грамма с минимумом 770 граммов. Средний вес доношенный новорожденных составил 3732 граммов с минимум 3150 граммов, средний вес в группе пациентов с гемангиомами составил 2343,3 грамма. Становится понятно, что более тяжелая стадия ретинопатия развилась у более маловесных пациентов, несмотря на гестационный возраст. Тем не менее, в группе с гемангиомами пациенты также являются недоношенным со средним гестационным возрастом 33,5 недель.

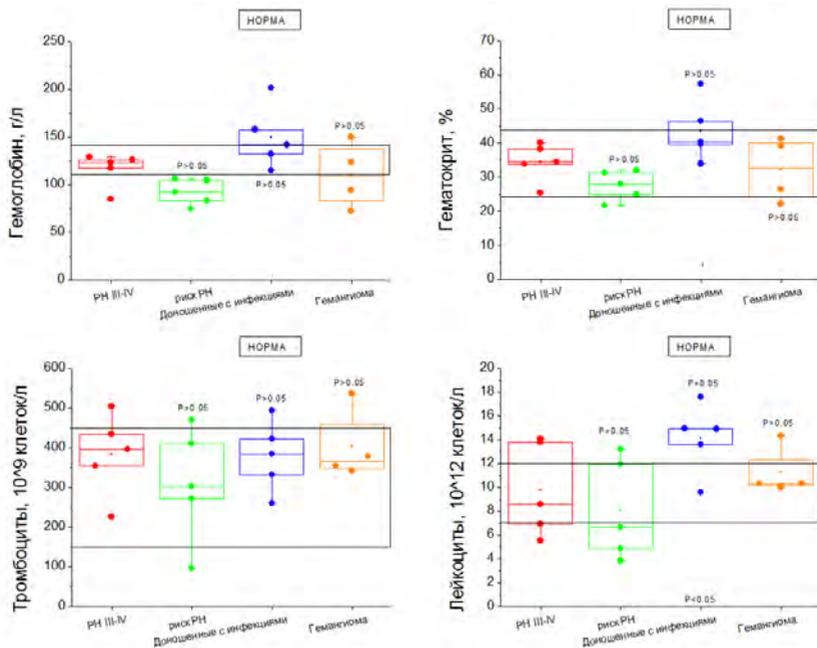


Рисунок 1. Показатели общего анализа крови у пациентов с ретинопатией, гемангиомами и доношенных новорожденных с воспалением.

На рисунке 1 изображены результаты анализов количества тромбоцитов, лейкоцитов, гемоглобина и гематокрита пациентов исследования. Мы видим, что у доношенных пациентов с воспалительными осложнениями (сепсис, пневмония), несмотря на отсутствие статистически значимых различий ($P > 0,05$ между всеми группами) тем не менее гемоглобин находится в норме или выше нормы, тогда как у части пациентов с ретинопатией и гемангиомами наблюдается анемия. Недоношенные дети часто страдают от анемического синдрома, что подтверждается данными нашего исследования. Интересно, что группа детей с RN I стадия полностью лежит ниже референсного значения, у всех детей низкий гемоглобин и наблюдается анемия. При этом гематокрит лежит в пределах нормальных значений во всех группах пациентов, однако у доношенных новорожденных, у которых наблюдался самый высокий гемоглобин соответственно наблюдается гематокрит чуть выше нормы. Также пациенты с гемангиомами страдают от кровоточивости последних, из-за чего может развиваться анемизация, и с этим также может быть связано снижение гемоглобина в этой группе.

Количество тромбоцитов (рис. 1) у всех групп пациентов находилось в норме или чуть выше нормы. Общее распределение значений тромбоцитов схоже у всех пациентов, как недоношенных со всеми стадиями ретинопатии и гемангиомами, так и у доношенных новорожденных. Количество лейкоцитов очевидно повышено у 90% пациентов с воспалительными осложнениями, 2 пациента из групп с ретинопатиями и 1 пациент с гемангиомой печени также страдали врожденной пневмонией, и по лабораторным показателям имели признаки воспаления. Тем не менее статистически значимой разницы не найдено, что скорее всего связано с малым количеством пациентов в выборках.

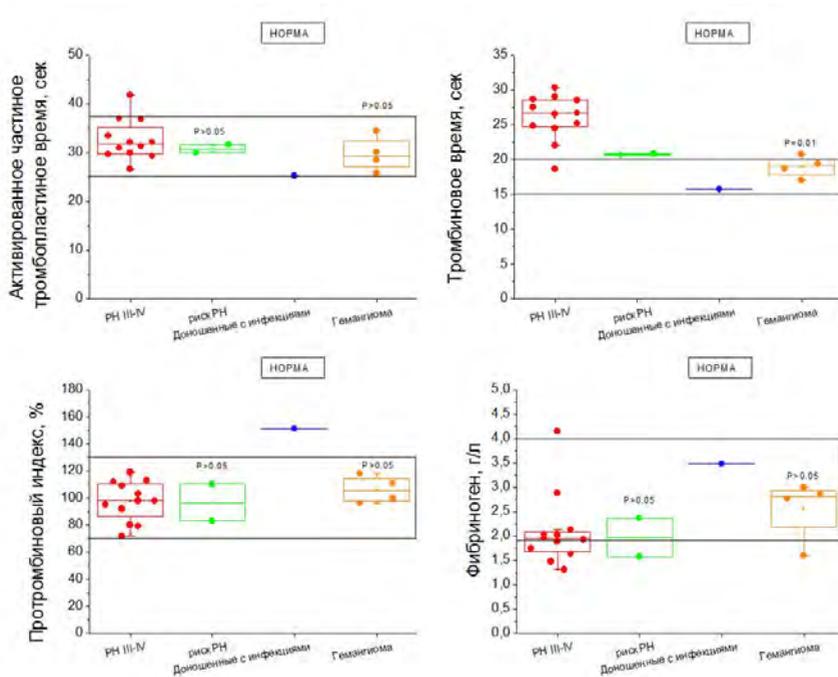


Рисунок 2. Показатели билирубина, глюкозы, лактат и С-реактивного белка у пациентов с ретинопатией, гемангиомами и доношенных новорожденных с воспалением.

Недоношенные новорожденные в том числе часто страдают от лактацидоза. Это связано с реанимационными состояниями, внутриутробными инфекциями, сердечно-сосудистыми нарушениями глубоко недоношенных детей. У недоношенных детей наблюдается повышение лактата, что мы видим во всех группах наших пациентов (рис. 2). Лактат – естественный продукт клеточного метаболизма, производная молочной кислоты, образуется в процессе метаболизма глюкозы. В группе доношенных новорожденных изменение лактата логично на фоне течения септического процесса. Статистической разницы между группами пациентов не наблюдается.

Наблюдается повышение билирубина у пациентов с тяжелыми воспалительными процессами (рис. 2): дети в группе доношенных пациентов в возрасте до 1 месяца, для неонатального периода характерна естественная гипербилирубинемия. Поэтому статистическое значимое различие с другими группами скорее всего связано с возрастом доношенных пациентов от 8 до 30 дней.

Интересно, что маркер состояния острого воспаления, С-реактивный белок, повышен только у 1 доношенного новорожденного с инфекционным процессом. При этом критически высокое значение наблюдается у 1 пациента с гемангиомой, а также небольшое повышение у пациента с РН III-IV. Что показывает, что недоношенные дети часто страдают от инфекционных осложнений после рождения.

На рисунке 3 показаны показатели свертывания крови у пациентов исследования. АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время) отражает внутренний путь свертывание, слегка удлинено у 1 пациента со стадией РН III-IV. Остальные пациенты во всех группах по АЧТВ находятся в пределах нормы. Тромбиновое время у пациентов с РН стадия III-IV значительно удлинено по сравнению с риском РН, а также доношенным детьми и группой с гемангиомами. Статистическую разницу можно посчитать только с группой пациентов с гемангиомой из-за ограничения по количеству пациентов с измеренным показателем ($P=0,01$). Интересно, что тромбиновое время удлинено у всех пациентов с РН стадия I, но не так критично. Также у пациентов с ретинопатиями значительно снижен фибриноген (рис. 3). Недоношенные пациенты

часто страдают от гипофибриногемии, нуждаются в переливании компонентов крови. В том числе пациенты с ретинопатией недоношенных. Ангиогенез происходит вдоль фибриновой сети, возможно, имеет место в том числе потребление белка фибриногена в том числе связано с изменением сосудистой системы у пациентов с ретинопатией недоношенных. Протромбиновый индекс повышен у пациента с инфекционным процессом, обычно легкая гиперкоагуляция часто совпадает с течением сепсиса.

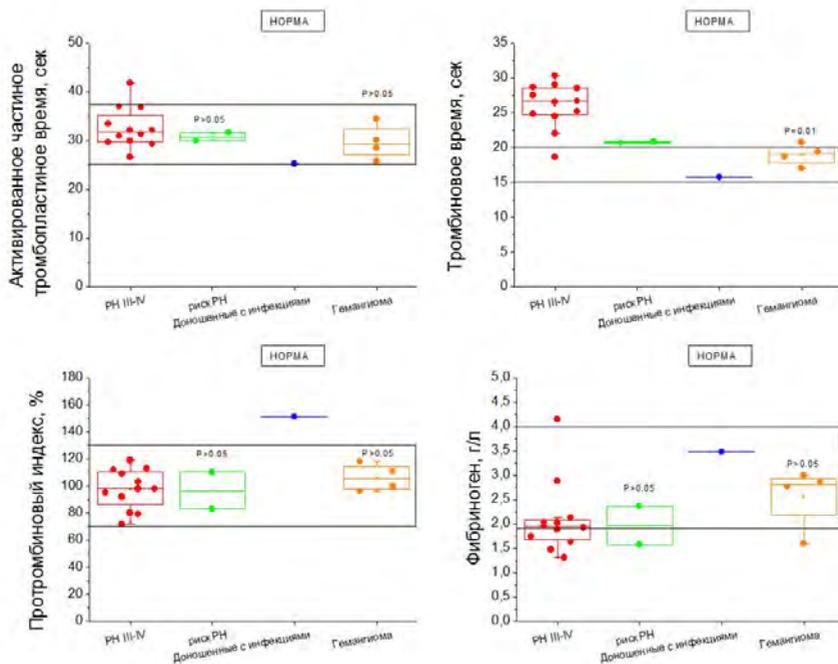


Рисунок 3. Показатели системы свертывания крови у пациентов с ретинопатией, гемангиомами и доношенных новорожденных с воспалением.

Заключение. Ретинопатия недоношенных – это сложное заболевание, при котором пациенты страдают от порока развития сетчатки глаза. Наше исследование показало, что большое количество лабораторных показателей биохимии, электролитов, общего анализа крови и показатели гемостаза изменены у детей с ретинопатией недоношенных по сравнению с недоношенными пациентами с гемангиомой и доношенными детьми с течением инфекционного процесса. Нельзя забывать, что все эти показатели в том числе влияют на исход осложнений после проведенного оперативного вмешательства по поводу РН, и в том числе могут оказывать прямое влияние на такие осложнения как отек, гемофтальм, рефракционная ошибка. Разумеется, оперативное вмешательство требует в том числе применения наркоза, что также связано с необходимостью оценки лабораторных показателей состояния пациента. У пациентов с тяжелой стадией РН, с меньшим весом, более выражены изменения в показателях гемоглобина, тромбинового времени, лактата, чем у пациентов с риском РН.

Список цитированной литературы:

1. Катаргина Л.А., Коголева Л.В. Патогенез нарушений зрения у детей с ретинопатией новорожденных под ред. С.Э. Аветисова, Т.П. Кащенко, А.М. Шамшиновой. Медицина, 2005.
2. Катаргина Л.А., Коголева Л.В. Ретинопатия недоношенных // Избранные лекции по детской офтальмологии под ред. В.В. Нероева. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
3. Hartnett M.E., Penn J.S. Mechanisms and Management of Retinopathy of Prematurity // N. Engl. J. Med. 2012. Vol. 367, № 26. P. 2515–2526.
4. Терещенко А.В. et al. Ранняя диагностика, мониторинг и лечение ретинопатии недоношенных. 3rd-е изд., перераб. и доп. ед. Москва: Апрель, 2013.
5. Phelps, D.L. (2001). Retinopathy of Prematurity: History, Classification, and Pathophysiology. *NeoReviews*. 2 (7): e153–e166.
6. Фомина Н.В. Ранняя диагностика и лечение активной фазы ретинопатии у недоношенных детей. Автореф. дисс. канд. мед. наук. СПб.; 1999.
7. Shastry, Barkur S (1 January 2010). Genetic susceptibility to advanced retinopathy of prematurity (ROP). *Journal of Biomedical Science*. 17 (1): 69.
8. Karna, P.; Muttineni, J.; Angell, L.; Karmaus, W. (2005). Retinopathy of prematurity and risk factors: A prospective cohort study. *BMC Pediatrics*. 5 (1): 18.
9. Stenson; BOOST II Cooperative Groups (2013). Oxygen Saturation and Outcomes in Preterm Infants. *New England Journal of Medicine*. 368 (22): 2094–2104.
10. Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity (July 2005). The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited. *Arch. Ophthalmol*. 123 (7): 991–999.
11. Jefferies, AL; Canadian Paediatric Society; Fetus and Newborn Committee (1 December 2010). Retinopathy of prematurity: Recommendations for screening. *Paediatrics & Child Health*. 15 (10): 667–0.
12. Gilbert, C.; Fielder, A.; Gordillo, L.; Quinn, G.; Semiglia, R.; Visintin, P.; Zin, A.; International No-Rop, G. (2005). Characteristics of Infants with Severe Retinopathy of Prematurity in Countries with Low, Moderate, and High Levels of Development: Implications for Screening Programs. *Pediatrics*. 115 (5): e518–e525.
13. Dobson, V.; Quinn, G. E.; Summers, C. G.; Hardy, R. J.; Tung, B.; Good, W. V.; Good, W. V. (2011). Grating Visual Acuity Results in the Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Study. *Archives of Ophthalmology*. 129 (7): 840–846.
14. Mintz-Hittner, HA; Kennedy, KA; Chuang, AZ; Beat-Rop Cooperative, Group (2011). Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *The New England Journal of Medicine*. 364 (7): 603–15.
15. Shah PK, Narendran V, Tawansy KA, Raghuram A, Narendran K (2007). Intravitreal bevacizumab (Avastin) for post laser anterior segment ischemia in aggressive posterior retinopathy of prematurity. *Indian Journal of Ophthalmology*. 55 (1): 75–76.
16. HEIDARY, Fatemeh; GHAREBAGHI, Reza (2016). Outcomes of Retinopathy of Prematurity. *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in Ophthalmology*. 5 (4): 112–114.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОДХОДОВ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ И ГЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ У ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ВАСКУЛОПРОЛИФЕРАЦИЕЙ.

Краткие положения по обзору.

Балашова Л.М.^{1,3}, Кузнецова Ю.Д.^{1,3}, Винер М.Е.^{2,3}

¹Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Пролiferации Тканей

²ООО “Офтальмик”,

³ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет Минздрава РФ

Москва, Россия

Среди инструментов генной инженерии подходы, основанные на CRISPR, получили широкое распространение для трансляционных исследований благодаря их надежности, точности и простоте использования. При доставке в больные ткани с помощью вирусного вектора, такого как аденоассоциированный вирус, можно эффективно проводить прямое редактирование генома *in vivo* для лечения различных офтальмологических состояний. Несмотря на то, что CRISPR активно исследуется как стратегия лечения наследственных заболеваний сетчатки, недавно было начато первое исследование применения его у пациентов при сложных, многофакторных состояниях, таких как глазной ангиогенез.

В настоящее время неоваскулярные заболевания сетчатки, такие как ретинопатия недоношенных, пролиферативная диабетическая ретинопатия и неоваскулярная возрастная макулярная дегенерация, которые вместе составляют большую часть случаев слепоты в развитых странах, лечат частыми и дорогостоящими инъекциями анти-VEGF), которые действуют недолго и обременительны для пациентов. Напротив, технология CRISPR обладает потенциалом для постоянного подавления ангиогенеза с дополнительным преимуществом нацеливания на внутриклеточные сигналы или регуляторные элементы, клеточно-специфической доставки и мультиплексирования для одновременного нарушения различных проангиогенных факторов.

Однако перспектива постоянного подавления физиологических путей, непредсказуемость эффективности редактирования генов и опасения по поводу нецелевых эффектов ограничивают энтузиазм в отношении этих подходов. В докладе будет рассмотрена эволюция генной терапии и генного редактирования, а также достижения в адаптации платформ CRISPR для подавления ангиогенеза сетчатки и другой глазной локализации. Будут обсуждены различные ортологи Cas9, стратегии доставки и различные геномные мишени, включая VEGF, рецептор VEGF и HIF-1 α , а также преимущества и недостатки редактирования генома по сравнению с традиционной генной терапией при многофакторных заболеваниях по сравнению с наследственными моногенными заболеваниями сетчатки. Также будет затронуто обсуждение барьеров, которые необходимо преодолеть, чтобы обеспечить эффективное внедрение стратегий на основе CRISPR для эффективного подавления патологического глазного ангиогенеза.

Application of gene editing and gene therapy approaches in ophthalmic patients with vasculoproliferation

L.M.Balashova^{1,3}, Yu.D.Kuznetsova^{1,3}, M.E.Winer^{2,3}

¹Non-profit partnership International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues

²Oftalmic CRO, 125167 Moscow, Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Among genetic engineering tools, CRISPR-based approaches have become widespread for translational research due to their robustness, accuracy, and ease of use. When delivered to diseased tissues using a viral vector such as adeno-associated virus, direct in vivo genome editing can be efficiently performed to treat various ophthalmic conditions. Although CRISPR is being actively investigated as a treatment strategy for hereditary retinal diseases, the first study of its use in patients with complex, multifactorial conditions such as ocular angiogenesis has recently begun.

Currently, neovascular retinal diseases such as retinopathy of prematurity, proliferative diabetic retinopathy, and neovascular age-related macular degeneration, which together account for the majority of blindness in developed countries, are treated with frequent and expensive anti-VEGF injections) that are short-lived and burdensome for patients. In contrast, CRISPR technology has the potential to permanently suppress angiogenesis with the added benefit of targeting intracellular signals or regulatory elements, cell-specific delivery, and multiplexing to simultaneously disrupt various pro-angiogenic factors.

However, the prospect of permanent suppression of physiological pathways, the unpredictability of the effectiveness of gene editing, and concerns about off-target effects limit enthusiasm for these approaches. The report will review the evolution of gene therapy and gene editing, as well as advances in adapting CRISPR platforms to suppress retinal angiogenesis and other ocular localizations. Various Cas9 orthologs, delivery strategies, and various genomic targets including VEGF, the VEGF receptor and HIF-1 α will be discussed, as well as the advantages and disadvantages of genome editing over conventional gene therapy in multifactorial diseases compared to inherited monogenic retinal diseases. A discussion of the barriers that need to be overcome to ensure the effective implementation of CRISPR-based strategies to effectively suppress pathological ocular angiogenesis will also be touched upon.

Список литературы.

1. Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Коробова Л.С., Кантаржи Е.П., Мухин В.Е., Черкашина Е.А., Быковская С.Н. Ретинопатия недоношенных: показатели клеточного иммунитета у больных с разными стадиями заболевания. Российский офтальмологический журнал. 2019. Т. 12. № 2. С. 5-11.
2. Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Попов А.В., Кузнецова Ю.Д., Иванова М.Е. Генетические маркеры глазных проявлений пролиферативного синдрома в пожилом возрасте. Клиническая геронтология. 2022. Т. 28. № 1-2. С. 41-45.
3. Винер М.Е., Бакунина Н.А., Салмаси Ж.М. и др. Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения. Клиническая офтальмология. 2022;22(1):16–22. DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22.
4. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Ерохина Е.В. Применение цветового дуплексного сканирования для оценки глазного кровотока у детей с активной ретинопатией недоношенных. Современные технологии в офтальмологии. 2020. № 4 (35). С. 228-229.
5. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Сидорова Ю.А., Ерохина Е.В., Фирсова В.В. Транспупиллярная герксагональная паттерновывалязетрокоагуляция сетчатки в лечении активных стадий ретинопатии недоношенных. Российский общенациональный офтальмологический форум. 2021. Т. 1. С. 174-177.
6. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Юдина Н.Н., Терещенкова М.С., Ерохина Е.В., Сидорова Ю.А. О сроках проведения витреальной хирургии при активной ретинопатии недоношенных. ActaBiomedicaScientifica (EastSiberianBiomedicalJournal). 2021. Т. 6. № 6-1. С. 96-104.
7. Cabral, T., Mello, L. G. M., Lima, L. H., Polido, J., Regatieri, C. V., Belfort, R., et al. (2017). Retinal and choroidal angiogenesis: a review of new targets. *Int. J. Retina Vitre.* 3:31. doi: 10.1186/s40942-017-0084-9
8. Caruso, A., Füh, M., Alvarez-Sánchez, R., Belli, S., Diack, C., Maass, K. F., et al. (2020). Ocular half-life of intravitreal biologics in humans and other species: meta-analysis and model-based prediction. *Mol. Pharm.* 17, 695–709. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b,01191
9. Caruso, A., Füh, M., Alvarez-Sánchez, R., Belli, S., Diack, C., Maass, K. F., et al. (2020). Ocular half-life of intravitreal biologics in humans and other species: meta-analysis and model-based prediction. *Mol. Pharm.* 17, 695–709. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b,01191

10. Chew, W. L., Tabebordbar, M., Cheng, J. K. W., Mali, P., Wu, E. Y., Ng, A. H. M., et al. (2016). A multifunctional AAV-CRISPR-Cas9 and its host response. *Nat. Methods* 13, 868–874. doi: 10.1038/nmeth.3993
11. Cho, S. W., Kim, S., Kim, Y., Kweon, J., Kim, H. S., Bae, S., et al. (2014). Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases. *Genome Res.* 24, 132–141. doi: 10.1101/gr.162339.113
12. Chung, J. Y., Ain, Q. U., Song, Y., Yong, S.-B., and Kim, Y.-H. (2019). Targeted delivery of CRISPR interference system against Fabbp4 to white adipocytes ameliorates obesity, inflammation, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Genome Res.* 29, 1442–1452. doi: 10.1101/gr.246900.118
13. Chung, S. H., Mollhoff, I. N., Nguyen, U., Nguyen, A., Stucka, N., Tieu, E., et al. (2020). Factors impacting efficacy of AAV-mediated CRISPR-based genome editing for treatment of choroidal neovascularization. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 17, 409–417. doi: 10.1016/j.omtm.2020.01.006
14. Cohen, M. N., O'Shaughnessy, D., Fisher, K., Cerami, J., Awh, C. C., Salazar, D. E., et al. (2020). APEX: a phase II randomised clinical trial evaluating the safety and preliminary efficacy of oral X-82 to treat exudative age-related macular degeneration. *Br. J. Ophthalmol.* 1–7. doi: 10.1136/bjophthalmol-2020-316511
15. Cohen, M. N., O'Shaughnessy, D., Fisher, K., Cerami, J., Awh, C. C., Salazar, D. E., et al. (2020). APEX: a phase II randomised clinical trial evaluating the safety and preliminary efficacy of oral X-82 to treat exudative age-related macular degeneration. *Br. J. Ophthalmol.* 1–7. doi: 10.1136/bjophthalmol-2020-316511
16. Crudele, J. M., and Chamberlain, J. S. (2018). Cas9 immunity creates challenges for CRISPR gene editing therapies. *Nat. Commun.* 9:3497. doi: 10.1038/s41467-018-05843-9
17. Ding, K., Shen, J., Hafiz, Z., Hackett, S. F., Silva, R. L. E., Khan, M., et al. (2019). AAV8-vectored suprachoroidal gene transfer produces widespread ocular transgene expression. *J. Clin. Invest.* 130, 4901–4911. doi: 10.1172/JCI129085
18. Dreyfuss, J. L., Giordano, R. J., and Regatieri, C. V. (2015). Ocular angiogenesis. *J. Ophthalmol.* 2015:892043. doi: 10.1155/2015/892043
19. Ellis, M. P., Lent-Schochet, D., Lo, T., and Yiu, G. (2019). Emerging concepts in the treatment of diabetic retinopathy. *Curr. Diab. Rep.* 19:137. doi: 10.1007/s11892-019-1276-5
20. Frye, M., Dierkes, M., Küppers, V., Vockel, M., Tomm, J., Zeuschner, D., et al. (2015). Interfering with VE-PTP stabilizes endothelial junctions in vivo via Tie-2 in the absence of VE-cadherin. *J. Exp. Med.* 212, 2267–2287. doi: 10.1084/jem.20150718
21. Fujita, K., Imamura, Y., Shinoda, K., Matsumoto, C. S., Mizutani, Y., Hashizume, K., et al. (2015). One-year outcomes with half-dose verteporfin photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy. *Ophthalmology* 122, 555–561. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.09.034
22. Greijer, A. E., van der Groep, P., Kemming, D., Shvarts, A., Semenza, G. L., Meijer, G. A., et al. (2005). Up-regulation of gene expression by hypoxia is mediated predominantly by hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). *J. Pathol.* 206, 291–304. doi: 10.1002/path.1778
23. Hellström, A., Smith, L. E., and Dammann, O. (2013). Retinopathy of prematurity. *Lancet* 382, 1445–1457. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60178-6
24. Holmgaard, A., Askou, A. L., Benckendorff, J. N. E., Thomsen, E. A., Cai, Y., Bek, T., et al. (2017). In vivo knockout of the vegfa gene by lentiviral delivery of CRISPR/Cas9 in mouse retinal pigment epithelium cells. *Mol. Ther. Nucleic Acids* 9, 89–99. doi: 10.1016/j.omtn.2017.08.016
25. Huang, X., Zhou, G., Wu, W., Duan, Y., Ma, G., Song, J., et al. (2017). Genome editing abrogates angiogenesis in vivo. *Nat. Commun.* 8:112. doi: 10.1038/s41467-017-00140-3
26. Huang, X., Zhou, G., Wu, W., Ma, G., D'Amore, P. A., Mukai, S., et al. (2017). Editing VEGFR2 blocks VEGF-induced activation of akt and tube formation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 58, 1228–1236. doi: 10.1167/iovs.16-20537
27. Kapoor, D. N., Bhatia, A., Kaur, R., Sharma, R., Kaur, G., and Dhawan, S. (2015). PLGA: a unique polymer for drug delivery. *Ther. Deliv.* 6, 41–58. doi: 10.4155/tde.14.91
28. Kim, K., Park, S. W., Kim, J. H., Lee, S. H., Kim, D., Koo, T., et al. (2017). Genome surgery using Cas9 ribonucleoproteins for the treatment of age-related macular degeneration. *Genome Res.* 27, 419–426. doi: 10.1101/gr.219089.116
29. Kim, S., Kim, D., Cho, S. W., Kim, J., and Kim, J.-S. (2014). Highly efficient RNA-guided genome editing in human cells via delivery of purified Cas9 ribonucleoproteins. *Genome Res.* 24, 1012–1019. doi: 10.1101/gr.171322.113

30. Koo, T., Park, S. W., Jo, D. H., Kim, D., Kim, J. H., Cho, H.-Y., et al. (2018). CRISPR-LbCpf1 prevents choroidal neovascularization in a mouse model of age-related macular degeneration. *Nat. Commun.* 9:1855. doi: 10.1038/s41467-018-04175-y
31. Lai, C.-M., Estcourt, M. J., Himbeck, R. P., Lee, S.-Y., Yew-San Yeo, I., Luu, C., et al. (2012). Preclinical safety evaluation of subretinal AAV2.sFlt-1 in non-human primates. *Gene Ther.* 19, 999–1009. doi: 10.1038/gt.2011.169
32. Lee, J., Mou, H., Ibraheim, R., Liang, S.-Q., Liu, P., Xue, W., et al. (2019). Tissue-restricted genome editing in vivo specified by microRNA-repressible anti-CRISPR proteins. *RNA* 25, 1421–1431. doi: 10.1261/rna.071704.119
33. Lee, S. C., Tran, S., Amin, A., Morse, L. S., Moshiri, A., Park, S. S., et al. (2020). Retinal vessel density in exudative and nonexudative age-related macular degeneration on optical coherence tomography angiography. *Am. J. Ophthalmol.* 212, 7–16. doi: 10.1016/j.ajo.2019.11.031
34. Li, A., Lee, C. M., Hurley, A. E., Jarrett, K. E., De Giorgi, M., Lu, W., et al. (2018). A self-deleting AAV-CRISPR system for in vivo genome editing. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 12, 111–122. doi: 10.1016/j.omtm.2018.11.009
35. Li, A., Tanner, M. R., Lee, C. M., Hurley, A. E., Giorgi, M. D., Jarrett, K. E., et al. (2020). AAV-CRISPR gene editing is negated by pre-existing immunity to Cas9. *Mol. Ther.* 28, 1432–1441. doi: 10.1016/j.jymthe.2020.04.017
36. Li, F., Hung, S. S. C., Mohd Khalid, M. K. N., Wang, J.-H., Chrysostomou, V., Wong, V. H. Y., et al. (2019). Utility of self-destructing CRISPR/cas constructs for targeted gene editing in the retina. *Hum. Gene Ther.* 30, 1349–1360. doi: 10.1089/hum.2019.021
37. Li, F., Wing, K., Wang, J.-H., Luu, C. D., Bender, J. A., Chen, J., et al. (2020). Comparison of CRISPR/cas endonucleases for in vivo retinal gene editing. *Front. Cell. Neurosci.* 14:570917. doi: 10.3389/fncel.2020.570917
38. Mandegar, M. A., Huebsch, N., Frolov, E. B., Shin, E., Truong, A., Olvera, M. P., et al. (2016). CRISPR interference efficiently induces specific and reversible gene silencing in human iPSCs. *Cell Stem Cell* 18, 541–553. doi: 10.1016/j.stem.2016.01.022
39. Mir, M., Ahmed, N., and Rehman, A. U. (2017). Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 159, 217–231. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.07.038
40. Rodríguez-Rodríguez, D. R., Ramírez-Solís, R., Garza-Elizondo, M. A., De Lourdes Garza-Rodríguez, M., and Barrera-Saldaña, H. A. (2019). Genome editing: a perspective on the application of CRISPR/Cas9 to study human diseases (review). *Int. J. Mol. Med.* 43, 1559–1574. doi: 10.3892/ijmm.2019.4112
41. Sahni, J., Patel, S. S., Dugel, P. U., Khanani, A. M., Jhaveri, C. D., Wykoff, C. C., et al. (2019). Simultaneous inhibition of angiopoietin-2 and vascular endothelial growth factor-A with faricimab in diabetic macular edema. *Ophthalmology* 126, 1155–1170. doi: 10.1016/j.ophtha.2019.03.023
42. Semenza, G. L. (2003). Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annu. Rev. Med.* 54, 17–28. doi: 10.1146/annurev.med.54.101601.152418
43. Shen, J., Frye, M., Lee, B. L., Reinardy, J. L., McClung, J. M., Ding, K., et al. (2014). Targeting VE-PTP activates TIE2 and stabilizes the ocular vasculature. *J. Clin. Invest.* 124, 4564–4576. doi: 10.1172/JCI74527
44. Stahl, A., Lepore, D., Fielder, A., Fleck, B., Reynolds, J. D., Chiang, M. F., et al. (2019). Ranibizumab versus laser therapy for the treatment of very low birthweight infants with retinopathy of prematurity (RAINBOW): an open-label randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* 394, 1551–1559. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31344-3
45. Todorich, B., Yiu, G., and Hahn, P. (2014). Current and investigational pharmacotherapeutic approaches for modulating retinal angiogenesis. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 7, 375–391. doi: 10.1586/17512433.2014.890047
46. Trapani, I., Colella, P., Sommella, A., Iodice, C., Cesi, G., de Simone, S., et al. (2014). Effective delivery of large genes to the retina by dual AAV vectors. *EMBO Mol. Med.* 6, 194–211. doi: 10.1002/emmm.201302948
47. Truong, V. A., Hsu, M.-N., Kieu Nguyen, N. T., Lin, M.-W., Shen, C.-C., Lin, C.-Y., et al. (2019). CRISPRai for simultaneous gene activation and inhibition to promote stem cell chondrogenesis and calvarial bone regeneration. *Nucl. Acids Res.* 47:e74. doi: 10.1093/nar/gkz267
48. Wang, H., Smith, G. W., Yang, Z., Jiang, Y., McCloskey, M., Greenberg, K., et al. (2013). Short hairpin RNA-mediated knockdown of VEGFA in Müller cells reduces intravitreal neovascularization in a rat model of retinopathy of prematurity. *Am. J. Pathol.* 183, 964–974. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.05.011

49. Wang, J., Xu, X., Elliott, M. H., Zhu, M., and Le, Y.-Z. (2010). Müller cell-derived VEGF is essential for diabetes-induced retinal inflammation and vascular leakage. *Diabetes* 59, 2297–2305. doi: 10.2337/db09-1420
50. Willoughby, A. S., Vuong, V. S., Cunefare, D., Farsiou, S., Noronha, G., Danis, R. P., et al. (2018). Choroidal changes after suprachoroidal injection of triamcinolone acetonide in eyes with macular edema secondary to retinal vein occlusion. *Am. J. Ophthalmol.* 186, 144–151. doi: 10.1016/j.ajo.2017.11.020
51. Wu, W., Duan, Y., Ma, G., Zhou, G., Park-Windhol, C., D'Amore, P. A., et al. (2017). AAV-CRISPR/Cas9-mediated depletion of VEGFR2 blocks angiogenesis in vitro. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 58, 6082–6090. doi: 10.1167/iovs.17-21902
52. Yeh, S., Khurana, R. N., Shah, M., Henry, C. R., Wang, R. C., Kissner, J. M., et al. (2020). Efficacy and safety of suprachoroidal CLS-TA for macular edema secondary to noninfectious uveitis. *Ophthalmology* 127, 948–955. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.01.006
53. Yiu, G. (2018). Genome editing in retinal diseases using CRISPR technology. *Ophthalmol. Retina* 2, 1–3. doi: 10.1016/j.oret.2017.09.015
54. Yiu, G., Chung, S. H., Mollhoff, I. N., Nguyen, U. T., Thomasy, S. M., Yoo, J., et al. (2020a). Suprachoroidal and subretinal injections of AAV using transscleral microneedles for retinal gene delivery in nonhuman primates. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 16, 179–191. doi: 10.1016/j.omtm.2020.01.002
55. Yiu, G., Manjunath, V., Chiu, S. J., Farsiou, S., and Mahmoud, T. H. (2014). Effect of anti-vascular endothelial growth factor therapy on choroidal thickness in diabetic macular edema. *Am. J. Ophthalmol.* 158, 745–751.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2014.06.006
56. Zhou, C., Hu, X., Tang, C., Liu, W., Wang, S., Zhou, Y., et al. (2020). CasRx-mediated RNA targeting prevents choroidal neovascularization in a mouse model of age-related macular degeneration. *Natl. Sci. Rev.* 7, 835–837. doi: 10.1093/nsr/nwaa03
57. Zimna, A., and Kurpisz, M. (2015). Hypoxia-inducible factor-1 in physiological and pathophysiological angiogenesis: applications and therapies. *BioMed Res. Int.* 2015:549412. doi: 10.1155/2015/549412
58. Zuris, J. A., Thompson, D. B., Shu, Y., Guilinger, J. P., Bessen, J. L., Hu, J. H., et al. (2015). Efficient delivery of genome-editing proteins in vitro and in vivo. *Nat. Biotechnol.* 33, 73–80. doi: 10.1038/nbt.3081

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПРО- И ANTIАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С АКТИВНОЙ ФАЗОЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Балашова Л.М.^{1,3}, Кузнецова Ю.Д.^{1,3}, Лесовой С.В.³, Салмаси Ж.М.³, Винер М.Е.^{2,3}

¹Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Пролиферации Тканей России, 119034, Москва, Россия, ул. Пречистенка 29/14

²ООО "Офтальмик", 125167 г. Москва, Ленинградский проспект, 47/3-3, Москва, Россия,

³ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России

Резюме. Авторы описали новую стратегию поиска терапевтических мишеней РН, имея достаточно данных о схожести процессов ангиогенеза при различных состояниях в организме, в том числе онкогенных. В представленной работе основное внимание уделяется анализу известных про- и антиангиогенных факторов, усиливающих или ослабляющих развитие сосудов сетчатки у новорожденных, патогенезу РН и лежащим в его основе молекулярным механизмам.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, экспрессия, проангиогенные факторы, антиангиогенные факторы, гены

Analisis of expression of the pro- and antiangiogene' s factors are from the patients with active fase of the retinopathy of prematurity

Balashova L.M., Kuznetsova Yu.D., Lesovoy S.V., Salmasi G.M., Viner M.E.

¹N.I. Pirogov Russian National Research University, Ministry of Health of Russia, Moscow

²International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

Keywords: retinopathy of prematurity, expression, antiangiogene' s factors, proangiogene' s factors, gene

Введение

Ретинопатия недоношенных (РН) представляет собой заболевание сосудов глаз, поражающее недоношенных детей, характеризующееся патологической неоваскуляризацией сетчатки (РНВ), расширенными и извитыми кровеносными сосудами сетчатки, а также кровоизлияниями в сетчатку или стекловидное тело, которые могут привести к отслоению сетчатки, ухудшению зрения и слепоте. По сравнению с другими неоваскулярными заболеваниями РН уникальна из-за одновременного физиологического и патологического ангиогенеза в развивающейся сетчатке [7]. Вопрос поиска причин ангиогенной активности у пациентов с ретинопатией недоношенных остается актуальным [1,2]. Хотя в настоящее время это заболевание лечится с помощью лазера или криотерапии[4-6], препараты, ингибирующие фактор роста эндотелия сосудов (анти-VEGF) были тщательно исследованы, но не одобрены Минздравом РФ из-за соображений безопасности, поскольку они отрицательно сказываются на физиологическом ангиогенезе развивающейся сетчатки. Идеальная терапевтическая стратегия должна избирательно ингибировать патологический, но не физиологический ангиогенез.

В связи с этим авторы описали новую стратегию поиска терапевтических мишеней РН, имея достаточно данных о схожести процессов ангиогенеза при различных состояниях в организме, в том числе онкогенных. В представленной работе основное внимание уделяется анализу известных про- и антиангиогенных факторов, усиливающих или ослабляющих развитие сосудов сетчатки у новорожденных, патогенезу РН и лежащим в его основе молекулярным механизмам.

Материалы и методы

В анализ были отобраны 16 (пятнадцать) пациентов (8 жен, 8 муж) с 3+-5 стадиями ретинопатии недоношенных. Возраст пациентов составлял от 1 месяца до 12,5 лет (10 детей – в возрасте до 1 года). Детям проводилась лазеркоагуляция и интравитреальное хирургическое вмешательство в зависимости от стадии, распространенности и активности процесса.

Были проанализированы данные полноэкзомного секвенирования по методу, описанному ранее [3]. Был проведен поиск наличия однонуклеотидных полиморфизмов и малых делеций/вставок в генах, приведенных в табл.1

Для построения карт геномного взаимодействия и моделирования геномной экспрессии были применены on line инструменты genemania.org и heatmapper.ca соответственно.

Результаты

На основе анализа данных литературы, базы данных экспрессии белков UniProt, а также на основе собственных данных для изучения экспрессии были отобраны 19 **проангиогенных** (*VEZFI, LTF, CSF1R, EGR1, FGF1, PTN, IFITM, HSP90AB1, HSP90B1, PRDX1, JMJD, ACTA2, XBP1, CCNG1, S100A10, IRS2, UPP1, MGP, OLFML3*) и 19 **антиангиогенных** генов (*RHBDF1, CTNNA1, F11R, PSEN2, RHBDF1, PLG, COL18A1, VHLL1, EIF4A1, EIFH4, ANKRD23, MIR-16, RAB6B, TSP1, RACK1, NR2E3, TKT, VLDLR, IGFBP4*) (см.табл.1)

С учетом того, что в сетчатке недоношенных новорожденных детей с ретинопатией параллельно происходит физиологическая и патологическая ангиопролиферация, а также с учетом вклада воспалительных, генетических и факторов внешней среды в этот процесс [8] важным является не только соблюдение режимов оксигенации, но и оптимального режима, рациона питания [10] и температурного режима.

На экспрессию про- и антиангиогенных факторов в сетчатке влияют 1) температурный режим, 2) лазерное воздействие на сетчатку, 3) рН в сетчатке и ионный баланс, так как эти факторы влияют на работу катализаторов, ферментов, факторов роста и на реализацию сигнальных путей.

Табл. 1. Про- и антиангиогенные факторы, регулирующие неоангиогенез в сетчатке при ретинопатии недоношенных.

Проангиогенные		Антиангиогенные	
факторы роста и старения клеток			
<i>VEZFI</i>	сосудистый эндотелиальный цинковый палец 1	<i>RHBDF1</i>	ромбовидный 5 гомолог 1
<i>LTF</i>	лактоферрин	<i>CTNNA1</i>	катенин альфа 1
<i>CSF1R</i>	Рецептор колониестимулирующего фактора 1	<i>F11R</i>	Рецептор F11
<i>EGR1</i>	ген реакции на ранний рост 1	<i>PSEN2</i>	пресенилин 2
<i>FGF1</i>	фактор роста фибробластов 16	<i>RHBDF1</i>	ромбовидный 5 гомолог 1
<i>PTN</i>	плейотрофин		
<i>IFITM</i>	интерферон-индуцированный трансмембранный белок 3		

факторы реакции на внешние воздействия			
<i>HSP90AB1</i>	белок теплового шока 90 альфа член класса В семейства 1	<i>PLG</i>	плазминоген, генерирует ангиостатин
<i>HSP90B1</i>	белок теплового шока 90 бета член семейства 1	<i>COL18A1</i>	коллаген XVIII типа альфа 1 цепь, предшественник эндостатина
<i>PRDX1</i>	пероксиредоксин 1	<i>VHL1</i>	Гиппель-Линдаункосупрессор, реагирует на уровень O2
ядерные факторы, передача сигналов			
<i>JMJD</i>	домен jumonji 6 с аргининдеметилазой и лизингидроксилазой, гормонзависимая активация транскрипции	<i>EIF4A1</i>	эукариотический фактор инициации трансляции 4A1
<i>ACTA2</i>	актин альфа 2, гладкие мышцы	<i>EIFH4</i>	Эукариотический фактор инициации трансляции 4H
		<i>ANKRD23</i>	домен анкириновых повторов 23
		<i>MIR-16</i>	микроРНК 16-1
онкогены, протоонкогены, ингибиторы онкогенеза			
<i>XBP1</i>	X-бокс-связывающий белок 1	<i>RAB6B</i>	член семейства онкогенов RAS
<i>CCNG1</i>	циклин G1	<i>TSP1</i>	область супрессора опухоли 1
каналы, рецепторы, гормоны			
<i>S100A10</i>	Белок, связывающий кальций S100 A10	<i>RACK1</i>	рецептор активированной киназы C
<i>IRS2</i>	субстрат инсулинового рецептора 2	<i>NR2E3</i>	ядерный рецептор подсемейства 2 группы E член 3
<i>UPP1</i>	уридинфосфорилаза 1	<i>TKT</i>	транскетолаза
адгезия, белки клеточной мембраны			
<i>SDCBP</i>	синдекан-связывающий белок	<i>VLDLR</i>	рецептор липопротеинов очень низкой плотности
<i>MGP</i>	белок матрикса Gla	<i>IGFBP4</i>	тромбоспондин 1
<i>OLFML3</i>	ольфактомедин подобный ген 3	<i>CTNNA1</i>	катенин альфа 1

Анализ генетического взаимодействия, метаболических путей, коэкспрессии, совместной локализации и сходства белковых доменов выявил следующие любопытные особенности:

Мы наблюдаем практически полное отсутствие физического взаимодействия изучаемой группы генов (тонкие красные нити, рис. 1), что подтверждает правильность метода их отбора: данные генетические факторы отвечают за различные сигнальные пути и ферментативные реакции, поэтому физически эти гены не взаимодействуют.

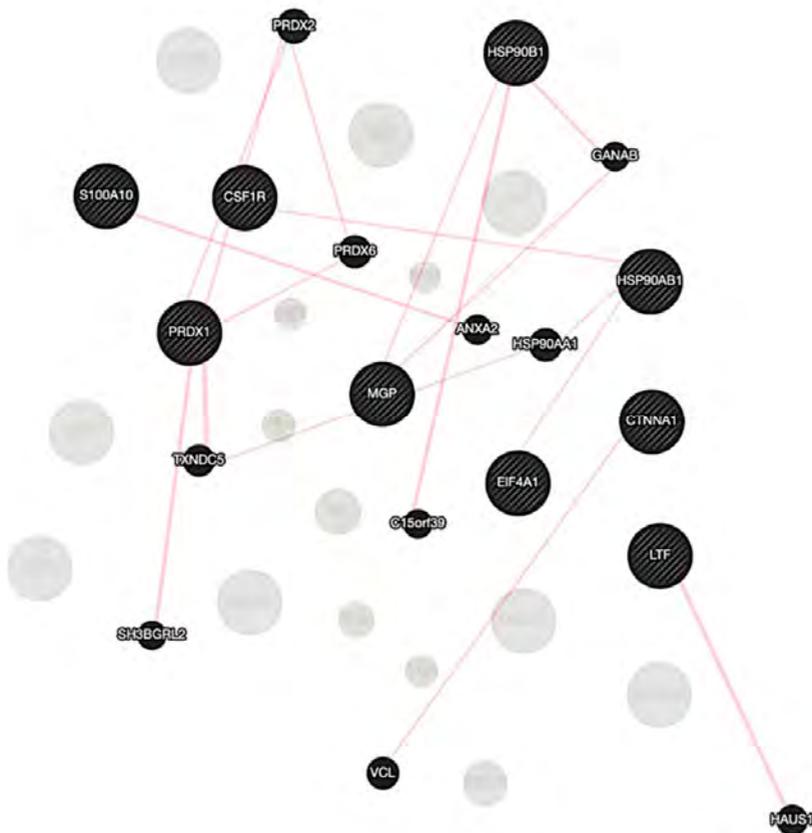


Рис. 1. Анализ физического взаимодействия про- и антиангиогенных факторов.

Однако наблюдаемая тенденция не относится к гену *TKT*. Мы видим значительно более сильные связи в генной сети транскетолазы (*TKT*) (рис.2, выраженные красные нити между генами). Этот ген кодирует тиамин-зависимый фермент, который играет роль в направлении избытка сахарофосфатов на гликолиз в пентозофосфатном пути и присутствует в каждой клетке, в значительно большем количестве в активных клетках, таковыми являются клетки сетчатки.

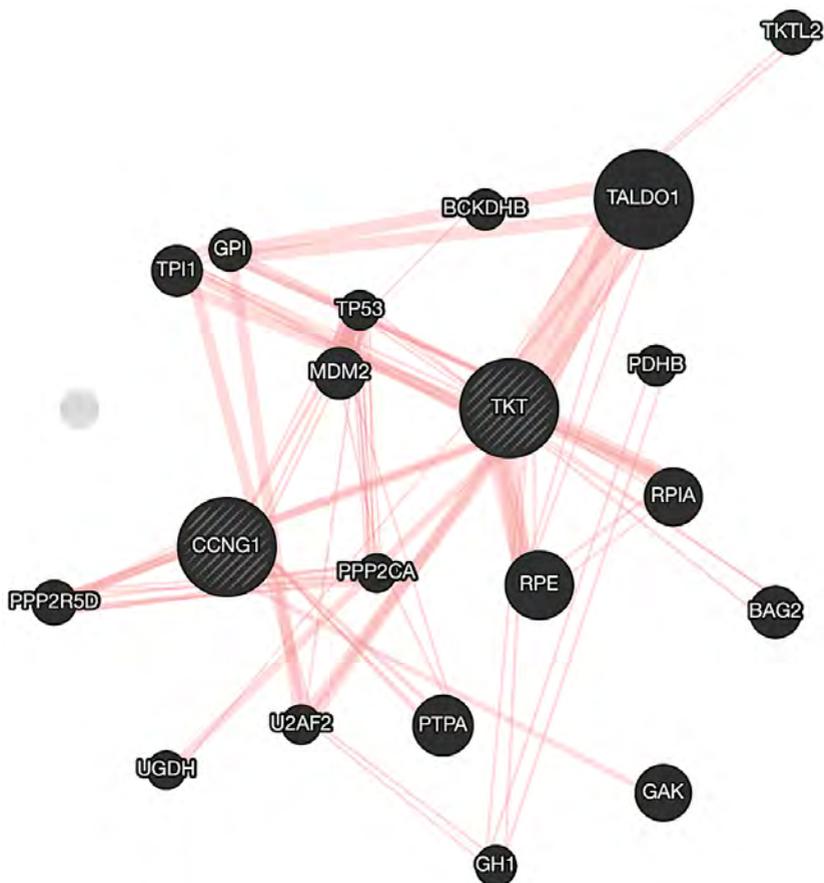


Рис. 2. Анализ физического взаимодействия про- и антиангиогенных факторов транскетолазы (*TKT*).

Анализ белковых доменов факторов про- и антиангиогенеза сетчатки приводит к четкому выделению трех групп белков со схожими функциональными доменами: (1) группа белков теплового шока, (2) группа катенина, лактоферрина, ольфактомедина и (3) группа плейотрофина, пероксиредоксина 1 (рис. 3).

Этот результат анализа говорит нам о том, что несмотря на функциональное разнообразие белков, участвующих в про- и антиангиогенезе, из них можно выделить три основные группы по строению их функционального домена.

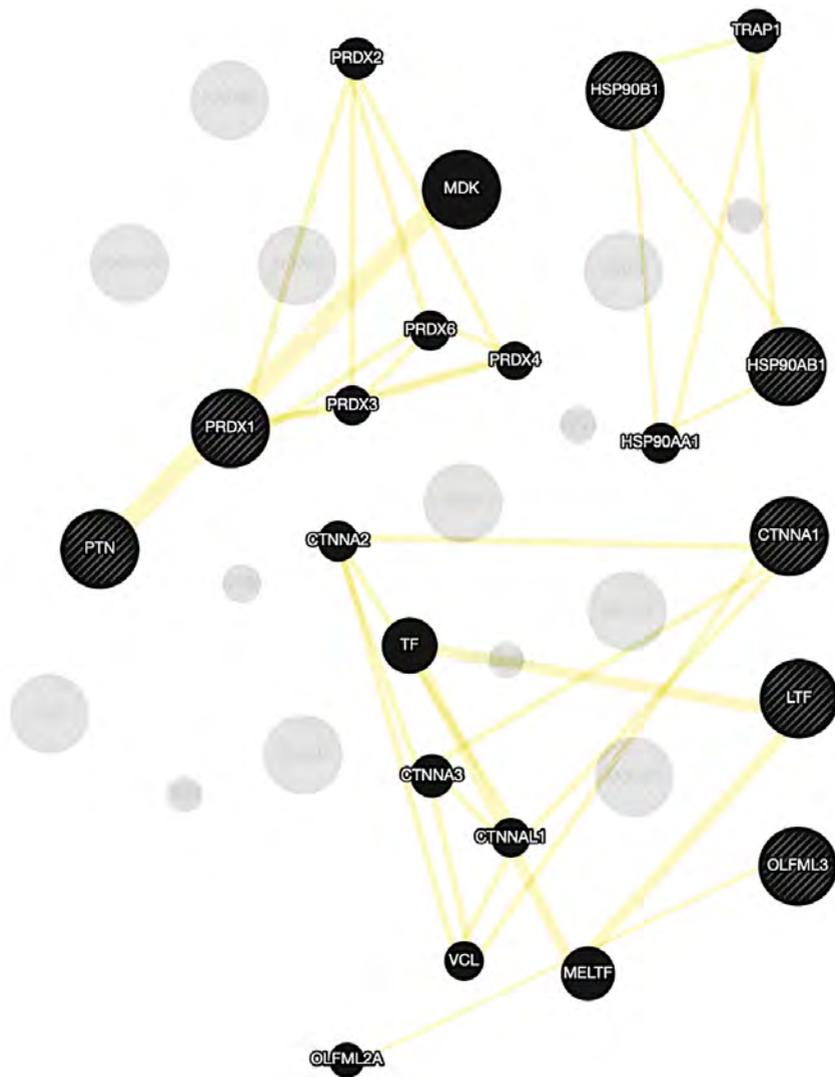


Рис. 3. Анализ белковых доменов факторов про- и антиангиогенеза сетчатки.

В отличие от результатов генетического анализа наличия мутаций в генах, отвечающих за пролиферацию в случае моногенных причин ретинопатии недоношенных, *FZD4*, *NDP*, *WFS1*, *NDP*, *RS1* и др., опубликованных ранее [3], в исследуемой группе пациентов не было обнаружено мутаций, связанных с перечисленными про- и анти-ангиогенными факторами. Данные результаты убеждают в мысли о важности анализа функциональной активности перечисленных генов ангиогенеза необходимости транскриптомного анализа у данной группы пациентов для построения предсказательных моделей характера и степени тяжести ретинопатии недоношенных с целью улучшить ведение пациентов с тяжелой степенью ретинопатии недоношенных и поиска более эффективной терапии.

Обсуждение

На текущем этапе проведен компьютерный анализ про- и антиангиогенных факторов сетчатки. Он позволяет проводить уточняющую диагностику нестандартных случаев ретинопатии недоношенных [11], выявляет скрытые зависимости различных факторов друг от друга.

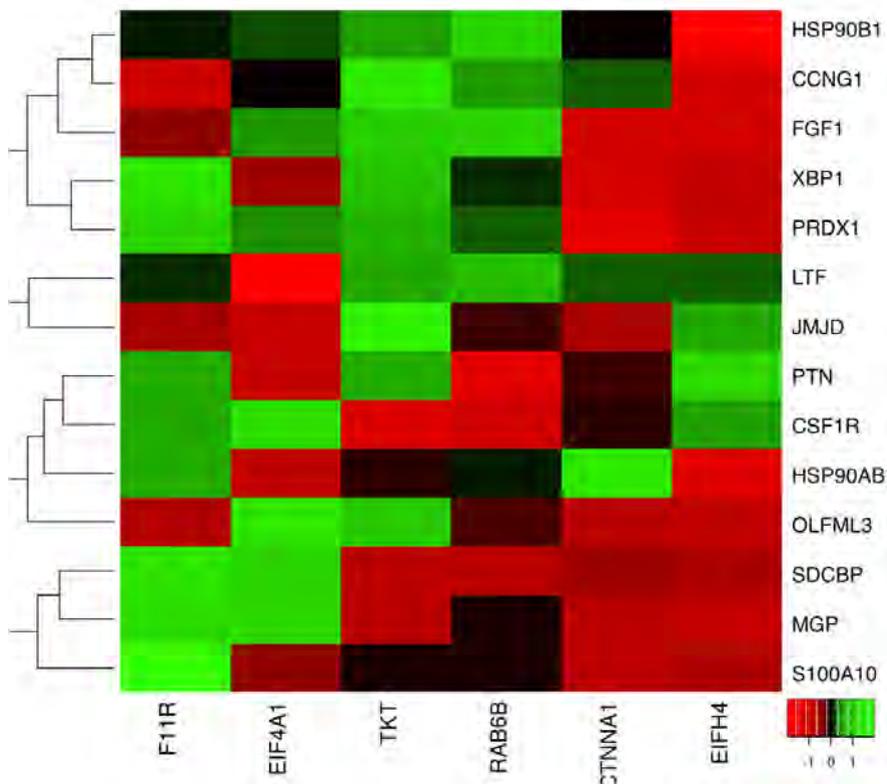


Рис. 4. Тепловая карта взаимной экспрессии проангиогенных (по вертикали) и антиангиогенных (по горизонтали) генов. Цветом представлена шкала от -1 (красный) от +1 (зеленый) степень взаимодействия.

Из полученной тепловой карты (рис. 4) мы можем видеть, что наиболее сильными антиангиогенными факторами из изучаемой группы являются белковые продукты генов **катенин альфа 1 (CTNNA1)** и **зукариотический фактор инициации трансляции 4E (EIF4)**. Ген катенина альфа кодирует белок, который играет важную роль в процессе клеточной адгезии, соединя кадерины, расположенные на плазматической мембране, с актиновыми филаментами внутри клетки. Кодируемый механочувствительный белок содержит три домена, гомологичных винкулину, и претерпевает конформационные изменения в ответ на внешние механические факторы, например, натяжение цитоскелета, что приводит к реконфигурации соединений кадгерин-актиновых филаментов. Под влиянием длительного механического напряжения клеток соединительной ткани сетчатки при тяжелых формах течения ретинопатии недоношенных экспрессия гена катенина альфа снижается, что является также дополнительным фактором запуска неангиогенеза. Помимо изменения в ангиогенезе как следствие более тяжелого течения ретинопатии недоношенных при определенных мутациях в этом гене проявляется пигментная дистрофия сетчатки в форме бабочки.

Эукариотический фактор инициации трансляции 4Н стимулирует инициацию синтеза белка на уровне активации мРНК, что способствует повышению экспрессии целой группы ангиогенных белков, что делает мишень *EIF4* привлекательной для разработки терапии, так как проявляет многофакторные протективные при ретинопатии недоношенных свойства.

Наиболее значимые факторы ангиогенеза сетчатки по результатам анализа данных литературы, базы данных экспрессии белков UniProt, а также на основе собственных данных:

1. факторы роста и старения клеток
2. факторы реакции на внешние воздействия
3. ядерные факторы, передача сигналов
4. онкогены, протоонкогены, ингибиторы онкогенеза
5. каналы, рецепторы, гормоны
6. адгезия, факторы клеточных мембран

Итак, к проангиогенным факторам относятся: *VEZF1, LTF, CSF1R, EGRI, FGF1, PTN, IFITM, HSP90AB1, HSP90B1, PRDX1, JMJD, ACTA2, XBP1, CCNG1, S100A10, IRS2, UPP1, MGP, OLFML3* к антиангиогенным: *RHBDF1, CTNNA1, F11R, PSEN2, RHBDF1, PLG, COL18A1, VHL1, EIF4A1, EIF4H, ANKRD23, MIR-16, RAB6B, TSP1, RACK1, NR2E3, TKT, VLDLR, IGFBP4*.

Следует помнить, что наиболее значимыми участниками неангиогенеза в глазу является трио клеток: Мюллера, эндотелия сосудов и ганглиозных клеток (рис.5). Их постоянный обмен медиаторами и факторами роста, ингибиторами и активация сигнальных путей позволяет соблюдать баланс неангиогенеза сетчатки в случае здорового глаза. Этот баланс требует коррекции в случае 3-5 степени тяжести ретинопатии недоношенных

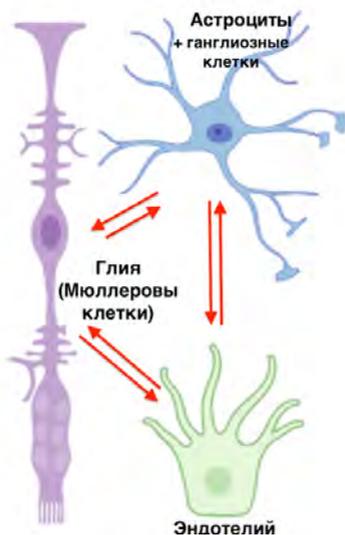


Рис.5. Треугольник реципрокной взаимной регуляции неангиогенеза в клетках сетчатки. Создано с помощью Biorender.com

Полученные результаты имеют важное значение для поиска мишеней терапии про- и антиангиогенных факторов у пациентов с ретинопатией недоношенных 3-5 степени тяжести, в том числе и для РНК-терапии[9,12,13].

Литература:

59. Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Коробова Л.С., Кантаржи Е.П., Мухин В.Е., Черкашина Е.А., Быковская С.Н. Ретинопатия недоношенных: показатели клеточного иммунитета у больных с разными стадиями заболевания. *Российский офтальмологический журнал*. 2019. Т. 12. № 2. С. 5-11.
60. Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Попов А.В., Кузнецова Ю.Д., Иванова М.Е. Генетические маркеры глазных проявлений пролиферативного синдрома в пожилом возрасте. *Клиническая геронтология*. 2022. Т. 28. № 1-2. С. 41-45.
61. Винер М.Е., Бакунина Н.А., Салмаси Ж.М. и др. Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения. *Клиническая офтальмология*. 2022;22(1):16–22. DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22.
62. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Ерохина Е.В. Применение цветового дуплексного сканирования для оценки глазного кровотока у детей с активной ретинопатией недоношенных. *Современные технологии в офтальмологии*. 2020. № 4 (35). С. 228-229.
63. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Сидорова Ю.А., Ерохина Е.В., Фирсова В.В. Транспупиллярная гексагональная паттерновалазеркоагуляция сетчатки в лечении активных стадий ретинопатии недоношенных. *Российский общенациональный офтальмологический форум*. 2021. Т. 1. С. 174-177.
64. Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Юдина Н.Н., Терещенкова М.С., Ерохина Е.В., Сидорова Ю.А. О сроках проведения витреальной хирургии при активной ретинопатии недоношенных. *ActaBiomedicaScientifica (EastSiberianBiomedicalJournal)*. 2021. Т. 6. № 6-1. С. 96-104.
65. Dai C, Webster KA, Bhatt A, Tian H, Su G, Li W. Concurrent Physiological and Pathological Angiogenesis in Retinopathy of Prematurity and Emerging Therapies. *Int J Mol Sci*. 2021 May 1;22(9):4809. doi: 10.3390/ijms22094809.
66. Fevereiro-Martins M, Guimarães H, Marques-Neves C, Bicho M. Retinopathy of prematurity: contribution of inflammatory and genetic factors. *Mol Cell Biochem*. 2022 Jun;477(6):1739-1763. doi: 10.1007/s11010-022-04394-4.
67. Gemayel MC, Bhatwadekar AD, Ciulla T. RNA therapeutics for retinal diseases. *Expert Opin Biol Ther*. 2021 May;21(5):603-613. doi: 10.1080/14712598.2021.1856365.
68. Hossain Z, Qasem WA, Friel JK, Omri A. Effects of Total Enteral Nutrition on Early Growth, Immunity, and Neuronal Development of Preterm Infants. *Nutrients*. 2021 Aug 11;13(8):2755. doi: 10.3390/nu13082755.
69. Li Y, Li J, Zhang X, Peng J, Li J, Zhao P. Identification of Gene Mutations in Atypical Retinopathy of Prematurity Cases. *J Ophthalmol*. 2020 Aug 20;2020:4212158. doi: 10.1155/2020/4212158.
70. Liu J, Jiang F, Jiang Y, Wang Y, Li Z, Shi X, Zhu Y, Wang H, Zhang Z. Roles of Exosomes in Ocular Diseases. *Int J Nanomedicine*. 2020 Dec 29;15:10519-10538. doi: 10.2147/IJN.S277190.
71. Plastino F, Pesce NA, André H. MicroRNAs and the HIF/VEGF axis in ocular neovascular diseases. *Acta Ophthalmol*. 2021 Dec;99(8):e1255-e1262. doi: 10.1111/aos.14845.

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИКИ ГЛАЗНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА

Балашова Л.М.^{1,3}, Бакунина Н.А.^{1,3}, Попов А.В.¹, Кузнецова Ю.Д.¹, Винер М.Е.^{2,3}

¹ Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Пролiferации Тканей России, 119034, Москва, Россия, ул. Пречистенка 29/14

² НКЦ Офтальмик, 125167 Москва, Россия Ленинградский проспект, 47/3

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Обобщение. Пролiferация появляющихся сосудистых сетей и соединительнотканых структур при глазной патологии, в том числе и у пожилых людей, является одной из лидирующих причин слепоты в мире. Существуют несколько физиологических моделей пролиферации при синдромном или изолированном повреждении органа зрения. Наиболее перспективные с точки зрения поиска мишеней для разработки лечения являются VEGF, WNT, *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*, *IGF1R*, *IL1B*, *TNF*, *IL10*, *TLR4*, *BDNF*, *HIF-1*, *VEGF*, *VEGFR1*, *PDGF*, *SDF-1*, *ANG2* и другие. **Целью** данной работы являлось создание удобного инструмента для практикующего врача для возможности уточнить прогноз, хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения в будущем. **Задачей** является разработка и применение алгоритма анализа молекулярно-генетических данных полногеномного/полноэкзомного секвенирования.

Ключевые слова: генетические особенности, пролиферативный синдром, офтальмология.

Genetic features of ocular proliferative syndrome manifestation

Larisa M. Balashova^{1,3}, Natalia A. Bakunina^{1,3}, Andrey V. Popov¹, Yulia D. Kuznetsova¹, Marianna E. Ivanova^{2,3}

¹ Non-profit partnership International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues of Russia, 119034, Moscow, Russia, Prechistenka str. 29/14

² Ophthalmic LLC, 125167 Moscow, Russia, Leningradsky Prospekt 47/3,

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

Balashova L.M. <https://orcid.org/0000-0001-9349-7092>

Ivanova M.E. <https://orcid.org/0000-0002-1089-4293>

Summary. Uncontrolled proliferation of cells of the vascular network and connective tissue of the visual organ in response to the release of inflammatory factors, imperfection of emerging vascular networks and connective tissue structures is one of the leading causes of blindness in the world, including in the elderly. There are several physiological models of proliferation in the case of syndromic or isolated damage to the visual organ. The most promising targets for treatment development are VEGF, WNT, *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*, *IGF1R*, *IL1B*, *TNF*, *IL10*, *TLR4*, *BDNF*, *HIF-1*, *VEGF*, *VEGFR1*, *PDGF*, *SDF-1*, *ANG2* and others.

The purpose of this work was to create a convenient tool for the practitioner to clarify the prognosis, course and severity of the process in patients with proliferative changes in the visual organ, to select the optimal therapeutic tactics and the possibility of pathogenetically-oriented targeted treatment in the future. **The goal** is to develop and apply an algorithm for analyzing molecular genetic data for full-genome / full-exome sequencing.

Keywords: Genetic features, ocular proliferative syndrome manifestation

Введение. Неконтролируемая пролиферация клеток сосудистой сети и соединительной ткани органа зрения в ответ на выброс воспалительных факторов, несовершенство появляющихся сосудистых сетей и соединительнотканых структур является одной из лидирующих причин слепоты в мире, в том числе и у пожилых людей. Существуют несколько физиологических моделей пролиферации при синдромном или изолированном повреждении органа зрения. Наиболее перспективные с точки зрения поиска мишеней для разработки лечения являются VEGF, WNT, *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*, *IGF1R*, *IL1B*, *TNF*, *IL10*, *TLR4*, *BDNF*, *HIF-1*, *VEGF*, *VEGFR1*, *PDGF*, *SDF-1*, *ANG2* и другие.

Целью данной работы являлось создание удобного инструмента для практикующего врача для возможности уточнить прогноз, хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения в

будущем. **Задачей** является разработка и применение алгоритма анализа молекулярно-генетических данных полногеномного/полноэкзомного секвенирования.

Материалы и методы. Из 1210 пациентов, направленных на клиническое и генетическое обследование, в том числе дифференциальную диагностику с 2015 по 2020 г. в НКЦ «Офтальмик» с моногенной глазной патологией или с подозрением на таковую, в том числе пролиферативным синдромом, центральными и периферическими дистрофиями сетчатки, ретинопатией недоношенных, сахарным диабетом и др. в группу отбора для дальнейшего анализа вошли 86 пациентов с изолированными глазными и/или синдромными признаками пролиферации, которые были разделены на 3 группы: 1) группа моногенной генетической патологии (21 пациент (42 глаза), 14 муж., 7 жен. в возрасте от 4 мес до 43 лет) по результатам клинического и генетического обследования которых молекулярный диагноз моногенного заболевания с пролиферативным компонентом был подтвержден 2) группа пациентов с клиническим диагнозом пролиферативная витреоретинопатия вследствие сахарного диабета (36 пациентов, (72 глаза), 16 муж., 20 жен. в возрасте от 11 до 56 лет) и 3) группа пациентов с клиническим диагнозом ретинопатия недоношенных (29 пациентов, (58 глаз) 10 муж., 19 жен. в возрасте от 3 мес до 12 лет). Срок наблюдения за пациентами составил от 6 до 36 мес.

Применялось лабораторно-диагностическое оборудование для проведения общеклинических, биохимических анализов.

Общеклинический: осмотр терапевта, консультация генетика, сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания, возраста начала и скорости прогрессирования, физикальное обследование, измерение роста, веса, ИМТ, типа телосложения.

Клинический инструментальный: включал следующие процедуры: визометрия, рефрактометрия, биомикроскопия, оптическая когерентная томография, периметрия, микропериметрия, пневмотонометрия, офтальмоскопия (с фотофиксацией, в случае пациентов до 1 года применение Retcam под общим наркозом), электроретинография, измерение зрительных вызванных потенциалов, темновая адаптометрия, аутофлуоресценция, флуоресцентная ангиография, проверка цветовосприятия по таблицам Рабкина и тесту Фарнсуорта/Хью).

Молекулярно-генетический: полноэкзомное секвенирование (WES) и NGS (next generation sequencing) панели, а также секвенирование отдельных генов проводилось путем забора 5 мл. периферической венозной крови, выделения ДНК. Для подготовки библиотек применялись реагенты Nextera Rapid Capture Exome v1.2 (Illumina). Секвенс проводился на приборе Illumina NextSeq 500 со средним покрытием 100X. Большие хромосомные аномалии исключались с помощью хромосомного микроматричного анализа (ХМА; Affymetrix CytoScan HD array). Секвенирование по Ээнгеру проводили, чтобы подтвердить обнаруженные мутации. Также проводили анализ сегрегации для доступных членов семьи, следуя протоколу Malaichamy.

Биоинформатический анализ и аннотация вариантов выполнялись с использованием стандартных и проприетарных алгоритмов. GATK и пользовательские базы данных применялись для обнаружения как однонуклеотидных вариантов (SNV), малых вставок/делеций, так и вариаций числа копийности (CNV). Эволюционную стабильность аминокислотных остатков определяли с помощью инструмента webPRANK, CDD / SPARCLE и MOTIF Search, а 3D-структура белка, функциональный анализ и влияние мутаций на заболевание проводились на Phyre2 и с помощью других инструментов.

Результаты. По результатам молекулярно-генетического и клинического анализа у 21 пациента был подтвержден диагноз моногенного пролиферативного заболевания сетчатки (Табл.1). Согласно установленному диагнозу пациентам было проведено консультирование и даны рекомендации относительно возможности получить эффективное лечение в будущем.

Таблица 1. Нозологический состав исследуемой группы №1

Клинический диагноз, ген	Количество пациентов
Гольдмана Фавре (синдром повышенного ответа колбочек) NR2E3	3 (2 муж 1 жен)
Стиклера синдром <i>COL11A1, COL2A1</i>	3 (1 муж, 2 жен)
Вагнера синдром <i>VCAN</i>	1 (жен)
Маршала синдром <i>COL11A1</i>	1 (муж)
Сахарный диабет	36 (16 муж, 20 жен)
Ретинопатия недоношенных (ROP)	29 (10 муж, 19 жен)
Семейная экссудативная витреоретинопатия (FEVR) <i>FZD4</i>	2 (муж)
Норри болезнь <i>NDP</i>	1 (муж)
Вольфрама синдром <i>WFS1</i>	1 (жен)
Коатса болезнь <i>NDP</i>	3 (муж)
X-сцепленный ювенильный ретиношизис (XLRS) <i>RS1</i>	4 (муж)
Аксенфельда-ригера синдром <i>PITX2</i>	2 (жен)

Анализ результатов обнаруженных мутаций во 2-й группе пациентов с клиническим диагнозом “пролиферативная диабетическая витреоретинопатия” (36 пациентов, (72 глаза), 16 муж., 20 жен. в возрасте от 11 до 56 лет) выявил полиморфизм -509C>T в гене *TGFB1* у 2-х пациентов и полиморфизм с.3174G>A в гене *IGF1R* у 3-х пациентов.

При анализе генетических результатов 3-й группы (29 пациентов, (58 глаз) 10 муж., 19 жен. в возрасте от 3 мес до 12 лет) с клиническим диагнозом “ретинопатия недоношенных 3 или 4 стадия” наиболее частыми были полиморфизмы +13553C>T (5 пациентов) -634G>C, +405G>C (rs2010963) (3 пациента), -460C>T (rs833061) (2 пациента) в гене *VEGFA*.

Обсуждение результатов. Разработан проприетарный алгоритм биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования, позволяющий уточнять прогноз течения и тяжести пролиферативного процесса с учетом клинических и генетических данных. В работу алгоритма включен анализ наличия мутаций в генах, прямо или косвенно участвующих в процессе ангиогенеза и основных сигнальных путей, среди которых гены: *ACE, AGTR1, BDNF, CETP, CFH, COL2A1, COL9A1/A2, COL11A1, VCAN (CSPG2), EPAS1, GP1BA, LRP5, NOS3, FZD4, INH, NDP, RS1, TBX5, TLR5, TSPAN12, VEGFA*.

Данный молекулярно-генетический анализ проводится в рамках LDT (laboratory developed test) и имеет свои ограничения при применении в практическом здравоохранении.

Разработанный алгоритм позволяет оказать клиницисту помощь в точной дифференциальной диагностике разрывов хориоидеи, рубцовой фазы токсоплазмоза, последствий токсокароза, друз диска зрительного нерва, гамартма, мультифокального хориоидита, саркоидоза, Болезни Беста и других.

В будущем в зависимости от лидирующего патофизиологического пути пролиферации у конкретного пациента будет применяться блокатор (или активатор ингибитора) причинного состояния, как на сегодня успешно применяется anti-VEGF терапия и проводятся успешные попытки применения различных малых молекул.

Выводы. Для возможности уточнять прогноз хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением усовершенствованного алгоритма анализа полученных данных.

Список литературы

1. Swan R, Kim SJ, Campbell JP et al, The genetics of retinopathy of prematurity: a model for neovascular retinal disease *Ophthalmol Retina*. 2018 September ; 2(9): 949–962. doi:10.1016/j.oret.2018.01.016.
2. Kim SJ, Port AD, Swan R et al. Retinopathy of Prematurity: A Review of Risk Factors and their Clinical Significance *Surv Ophthalmol*. 2018 ; 63(5): 618–637. doi:10.1016/j.survophthal.2018.04.002.
3. Nashwa SZ, Khair M, Ismail AS, Embong Z Detection of FZD4, LRP5 and TSPAN12 Genes Variants in Malay Premature Babies with Retinopathy of Prematurity *J Ophthalmic Vis Res* 2019; 14 (2): 171–178
4. Selvam S, Kumar T, Fruttiger M, Retinal vasculature development in health and disease *Progress in Retinal and Eye Research* 10.1016/j.preteyeres.2017.11.001

К ВОПРОСУ ИНГИБИЦИИ И СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА

Балашова Л.М.^{1,2}, Кузнецова Ю.Д.^{1,2}, Бакунина Н.А.^{1,2}, Лесовой С.А.^{1,2}, Винер М.Е.¹

¹ФГАОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва

²НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Россия

Вопрос стимуляции и ингибции ангиогенеза является ключевым в решении купирования патологических состояний организма, в том числе глаза.

Нами предложен способ генетической диагностики офтальмопролиферативного синдрома, при котором у пациента, имеющего клинические признаки неоваскуляризации, производят забор образца биологического материала для проведения ДНК-диагностики, в отношении которого первоначально осуществляют поиск крупных делеций с размером по меньшей мере в одну тысячу пар нуклеотидов регионов 7p13, 7q21, 14q, 16p13.11, 11q, методом MLPA и XMA и на основании результатов этого поиска производят дальнейшие мероприятия, выбранные из следующей группы диагностических инструментов (рис. 1):

- в случае обнаружения крупной делеции региона 7p13 и 7q21, захватывающей локусы генов Corf22, и подтверждения делеций на генетическом материале пациента методом флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) с зондом, специфичным к гену Corf22, пациенту выставляется диагноз синдром Дубовица;
- в случае обнаружения микроделеций региона 16p13.11, и подтверждения делеций на генетическом материале пациента методом анализа потери гетерозиготности по микросателлитным маркерам, пациенту выставляется клинический диагноз микроделеции 16p13.11, который проявляется задержкой развития, в том числе ментального и аномалиями васкуляризации;
- в случае отсутствия крупных делеций регионов 7p13, 7q21, 14q, 16p13.11, 11q, проводят полноэкзомное или полногеномное секвенирование (WES, WGS) для поиска малых внутригенных мутаций набора перечисленных генов, при этом проводят секвенирование экзонов и сплайс-сайтов генов: ACE, AGTR1, APOE, BDNF, C3, CFH, COL10A1, HTRA1, SLC16A8, TGFBR1, TIMP3, полиморфизмы в этих генах приводят к повышенному риску возникновения возрастной макулярной дегенерации и влажной ее формы.
- в случае отсутствия внутригенных мутаций набора перечисленных генов проводят проверку внутригенных мутаций в генах, мутации в которых приводят к моногенным заболеваниям, связанным с пролиферацией и патологией сосудистого глазного русла, при этом проводят секвенирование экзонов и сплайс-сайтов генов: CETP, COL2A1, COL8A1, COL9A1, COL9A2, COL11A1, EPAS1, GPIBA, HIF-1, NOS3, INH, PDGF, PIGF, RS1, TBX5, VCAN, VEGFA, FZD4, LRP5, NDP, TLR5, TSPAN12, причем осуществляют проверку патогенности обнаруженных мутаций в соответствии с критериями ACMG, и при свидетельстве патогенности мутации пациенту выставляется клинический диагноз офтальмопролиферативного синдрома. Для сиквенса перечисленных генов применяли проприетарный набор специальных праймеров.
- в зависимости от обнаруженной мутации и как следствие понимания патогенеза заболевания проводят подбор симптоматической терапии, таргетного лечения коллагенопатий, модуляции сигнальных путей (WNT, Notch, DLL4-like и др), регулируют фармакологическими агентами активность ветвления сосудов, а также ингибируют рост сосудов, в том числе проводят таргетное лечение в случае ретиношизиса. Если мутация затрагивает метаболизм гликозаминогликанов (ген VCAN), проводят соответствующую терапию.

Способ отличается тем, что производят забор образца биологического материала из группы: венозной или капиллярной крови, слюны, буккального соскоба, осадка эпителия нижних мочевыводящих путей. Способ также отличается тем, что для подтверждения патогенности и клинической значимости выявленной делеций или иной мутации определяется генетический статус этого изменения у родителей. Способ отличается тем, что в качестве микросателлитных маркеров для

анализа потери гетерозиготностиносителей крупной делеции регионов 7p13, 7q21, 14q, 16p13.11, 11q, по микросателлитным маркерам выбирают специальные маркеры (Заявка на патент №2020140981 – Форма 940. Вх.номер W20076247 от 11.12.2020 Способ дифференциальной и подтверждающей молекулярно-генетической диагностики васкулопролиферативноофтальмосиндрома Винер М.Е., Балашова Л.М, Бакунина Н.А, BarhD.)

Кроме того, обсуждается вопрос участия генов Rhbdf1, Tsp1,Igfbp4, Psen2, Vldlr, Ankrd23, Mir-16 в торможении неоваскуляризации, повышение экспрессии гена Upp1- в сопровождении ангиогенеза, а также генов Egr1 и Irs2, , Ifitm, Acta2, Vezf1 – в усилении ангиогенеза.

Проводится исследование, направленное на обнаружение связей генов, стимулирующих и ингибирующих ангиогенез, с генами коллагенов.

Продолжение

ПОДХОДЫ К МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА. НЕОБХОДИМОСТЬ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИ НАПРАВЛЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ

Балашова Л.М.^{2,4}, Бакунина Н.А.^{2,3,4}, Салмаси Ж.М.⁴, Порядин Г.В.⁴, Бар Д.¹, Кузнецова Ю.Д.², Винер М.Е.¹

¹НКЦ Офтальмик, 125167 Москва, Россия Ленинградский проспект, 47/3

²Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Пролiferации Тканей России, 119034, Москва, Россия, ул. Пречистенка 14/19

³ГКБ №1 им. Н.И.Пирогова, Ленинский проспект, 8, Москва, 119049, Российская Федерация

⁴ФГАОУ ВО «РНМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ул. Островитянова, 1, Москва, 117997, Российская Федерация

Абстракт:

Введение: неконтролируемая пролиферация клеток сосудистой сети органа зрения в ответ на выброс воспалительных факторов, несовершенство появляющихся сосудистых сетей и соединительнотканых структур является одной из лидирующих причин слепоты и слабозрения в мире. **Цель:** создание удобного инструмента для практикующего врача для возможности уточнить прогноз, течение и тяжесть процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения в будущем. Для достижения цели необходимо разработать и применить алгоритм анализа молекулярно-генетических данных на основании литературных и собственных данных. **Материалы и методы:** Из 1210 пациентов моногенной пролиферативной глазной патологией или с подозрением на таковую, в том числе пролиферативным синдромом, ретинопатией недоношенных, сахарным диабетом были отобраны в группу для дальнейшего анализа. Пациенты были распределены на три группы: 1) группа моногенной генетической патологии (21 пациент (42 глаза), 14 муж, 7 жен. в возрасте от 4 мес до 43 лет) по результатам клинического и генетического обследования которых молекулярный диагноз моногенного заболевания с пролиферативным компонентом был подтвержден 2) группа пациентов с клиническим диагнозом пролиферативная витреоретинопатия вследствие сахарного диабета (36 пациентов, (72 глаза), 16 муж., 20 жен. в возрасте от 11 до 56 лет) и 3) группа пациентов с клиническим диагнозом ретинопатия недоношенных (29 пациентов, (58 глаз) 10 муж., 19 жен. в возрасте от 3 мес до 12 лет). Срок наблюдения за пациентами составил от 6 до 36 мес. Все пациенты прошли лабораторное, молекулярно-генетическое и расширенное релевантное клиническое обследование. **Результаты:** По результатам молекулярно-генетического и клинического анализа у 21 пациента был подтвержден диагноз моногенного пролиферативного заболевания сетчатки. Разработан проприетарный алгоритм биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования, позволяющий уточнять прогноз течения и тяжести пролиферативного процесса с учетом клинических и генетических данных. В работу алгоритма включен анализ наличия мутаций в генах, прямо или косвенно участвующих в процессе ангиогенеза, и основных сигнальных путей. Анализ результатов обнаруженных мутаций во 2-й группе пациентов с клиническим диагнозом “пролиферативная диабетическая витреоретинопатия” выявил полиморфизм $-509C>T$ в гене *TGFB1* у 2-х пациентов и полиморфизм $c.3174G>A$ в гене *IGF1R* у 3-х пациентов. При аннотации генетических результатов 3-й группы с клиническим диагнозом “ретинопатия недоношенных” 3 или 4 стадии наиболее частыми были полиморфизмы $+13553C>T$ (5 пациентов) $-634G>C$, $+405G>C$ (rs2010963) (3 пациента), $-460C>T$ (rs833061) (2 пациента) в гене *VEGFA*. **Выводы:** Для возможности уточнять прогноз хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением усовершенствованного алгоритма анализа полученных данных.

Ключевые слова: пролиферативный синдром, сахарный диабет, ретинопатия недоношенных, *VEGFA*, *TGFB1*, *IGF1R*, Стиклера, Вагнера, Вольфрама, Маршала синдром, болезнь Норри, Коатса, ретиношизис

Molecular genetic diagnosis of proliferative syndromeocular manifestations. Pathophysiologic targeted treatment

Larisa M. Balashova^{3,4}, Natalia A. Bakunina^{2,3,4}, Jean M. Salmasi³, Gennadiy V. Poryadin³, Debmalya Barh¹, Marianna E. Ivanova¹

1. Ophthalmic CRO, 125167 Moscow, Russia, LeningradskyProspekt 47/3,

2.N.I. Pirogovcity clinical hospital №1 , Leninskiyprospect, 8, Moscow, 119049, Russian Federation.

3.Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova St., 117997 Moscow, Russian Federation;

4. Non-profit partnership International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues of Russia, 119034, Moscow, Russia, Prechistenka str. 14/19

Abstract

Introduction: uncontrolled proliferation of the eye vascular cellular network in response to the release of inflammatory factors, the imperfection of the neovascular networks and connective tissue structures is one of the leading causes of blindness and low vision in the world. **Purpose:** to create a convenient tool for a practitioner to be able to clarify the prognosis, course and severity of the process in patients with proliferative changes in the eye, to select the optimal therapeutic tactics and the possibility of pathogenetically oriented targeted treatment in the future. To achieve this goal, it is necessary to develop and apply an algorithm for analyzing molecular genetic data on the basis of literature and proprietary data. **Materials and methods:** Patients with monogenic proliferative ocular pathology or with suspicion of such, including proliferative syndrome, retinopathy of premature infants, and diabetes mellitus were selected out of 1210 patients for further analysis. Patients were divided into three groups: 1) a group of monogenic genetic pathology (21 patients (42 eyes), 14 men, 7 women, aged from 4 months to 43 years old) according to the results of clinical and genetic examination of a monogenic disease with a proliferative component 2) a group of patients with a clinical diagnosis of proliferative vitreoretinopathy due to diabetes (36 patients, (72 eyes), 16 men, 20 women aged from 11 to 56 years) and 3) a group of patients with a confirmed clinical diagnosis of retinopathy of prematurity (29 patients, (58 eyes) 10 men, 19 women, from the age of 3 months to 12 years). The follow-up period for patients ranged from 6 to 36 months. All patients underwent laboratory, molecular and extended relevant clinical examination. **Results:** According to the results of molecular genetic and clinical analysis in 21 patients, the diagnosis of monogenic proliferative retinal disease was confirmed. A proprietary algorithm for bioinformatic analysis of WES/WGS (whole exome, or whole genome sequencing) data has been developed, which allows to refine the prognosis of the course and severity of the proliferative process, taking into account clinical and genetic data. The algorithm includes the analysis of the mutations in genes that are directly or indirectly involved in the process of angiogenesis, and the main signaling pathways. Analysis of the results of the detected mutations in the 2nd group of patients with a clinical diagnosis of proliferative diabetic vitreoretinopathy revealed -509C> T polymorphism in the *TGFBI* gene in 2 patients and c.3174G> A polymorphism in the *IGF1R* gene in 3 patients. When announcing the genetic results of the 3rd group with a clinical diagnosis of retinopathy of premature 3d or 4th stages, the most common were polymorphisms + 13553C> T (5 patients) -634G> C, + 405G> C (rs2010963) (3 patients), -460C > T (rs833061) (2 patients) in the *VEGFA* gene. **Conclusions:** In order to be able to clarify the prognosis of the course and severity of the process in patients with proliferative changes in the organ of vision, to select the optimal therapeutic tactics and the possibility of pathogenetically oriented targeted treatment, it is necessary to conduct a specialized molecular genetic test using an advanced algorithm for analyzing the obtained data.

Keywords: proliferative syndrome, diabetes mellitus, retinopathy of prematurity, *VEGFA*, *TGFBI*, *IGF1R*, Stickler, Wagner, Wolframe, Marshall syndrome, Norrie, Coats disease, retinoschisis.

Введение

Неконтролируемая пролиферация клеток сосудистой сети органа зрения в ответ на выброс воспалительных факторов, несовершенство появляющихся сосудистых сетей и соединительнотканых структур является одной из лидирующих причин слепоты в мире. Данная статья является обобщением актуальной информации мировой литературы в совокупности с

анализом собственного опыта молекулярно-генетических и клинических данных, полученных за пять лет наблюдения пациентов с пролиферативным синдромом для поиска способов облегчения протекания клинической картины заболевания у пациентов и в конечном счете излечения от избыточной непродуктивной пролиферации.

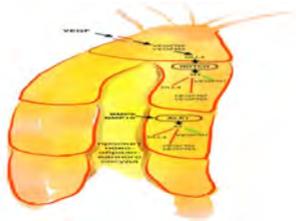


Рисунок 1. Схематическое изображение двух основных видов сигнальных путей апикальной части новообразованного сосуда, для продолжения или терминции роста сосуда.

Figure 1. Two main types schematic representation of the signaling pathways in the apical part of the newly formed vessel, for the continuation or termination of vessel growth.

Определение будущего фенотипа концевых клеток в прорастающих эндотелиальных клетках опосредуется через сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular endothelial growth factor, VEGF) индуцирующая VEGFR2/3 или лиганд DLL4 (deltalike 4) нарастающем апексе новообразованного сосуда [1]. **Notch лиганд Deltalike 4 (DLL4)** является основным для фенотипа “наконечника” и может рассматриваться как тумблер, который устанавливает состояние наконечника либо ветвления. Он сильно экспрессируется в состоянии наконечника, активируя NOTCH сигнальный путь в соседних клетках, где он подавляет транскрипцию *DLL4*. Активированный Notch действует через Notch опосредованные факторы транскрипции (NT), подавляя *DLL4* и VEGFR2/3 и индуцируя *VEGFR1*. Это снижает чувствительность к VEGF и стабилизирует фенотип дальнейшего ветвления сосуда. Костные морфогенетические белки активаторы 9 и 10 (Bone Morphogenetic Protein 9/10, BMP9/BMP10) в плазме действуют через киназный сигнальный путь анапластической лимфомы 1 (anaplastic lymphoma kinase 1, ALK1) на сходных нижестоящих мишенях (AT-опосредованно), так же, как Notch, и дополнительно способствуют фенотипу ветвления [6].

Избыточное прорастание сосудов происходит, когда блокируется передача сигналов Notch или ALK1 (благоприятствуя фенотипу “наконечника”). Напротив, недостаточное прорастание сосудов может быть вызвано чрезмерной активацией BMP9. Он также обнаружен у людей с мутациями потери функции в wingless сигнальном пути (wingless signaling pathway, WNT signaling pathway) и сигнального пути трансформирующего ростового фактора бета 1 (transforming growth factor beta-1 signaling pathway, TGFβ1 signaling pathway).

Существуют несколько физиологических моделей пролиферации при синдромном или изолированном повреждении органа зрения. Наиболее перспективные с точки зрения поиска мишеней для разработки лечения являются:

1. **VEGF и связанные с ним рецепторы VEGFA.** Данная модель является одной из наиболее изученных моделей пролиферации в мире. Рецепторы *VEGFR2* и опосредованный с ними неангиогенез делают эту молекулу важной мишенью для клинических исследований.
2. **WNT- и Норрин- сигнальные пути.** Трансмембранные белки, участвующие в реализации рассматриваемых сигнальных путей при наличии мутаций в них (*FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*) приводят к развитию семейной экссудативной витреоретинопатии (Familial exudative vitreoretinopathy, FEVR) и болезни Норри. К примеру, рецептор по типу “завиток”, класс 4 (frizzled class receptor 4, Frizzled 4 (*FZD4*)) представляет собой трансмембранный белок с 7 доменами с сигнальной пептидной последовательностью, обнаруженной между 1 и 37-м аминокислотным остатком и участвует в формировании гематоофтальмического барьера с участием негативных и положительных регуляторов норрин / β-катенин при ангиогенезе сетчатки [4,5]. Каждый из этих белков является потенциальной терапевтической мишенью при наличии подтвержденного генетического отклонения в нем от нормы.

3. **Инсулиноподобный фактор роста 1 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1) IGF1R.** Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) способствует соматическому росту организма. При мутациях в гене *IGF1R* проявления сахарного диабета (гипергликемия) приводит к пролиферативному росту новообразованных сосудов
4. **Эндотелиальная синтаза оксида азота (nitric oxide synthase, eNOS)** является одним из ферментов, синтезирующих оксид азота в ответ на окислительный стресс (oxidative stress, OR). Она приводит к неоваскуляризации и вазо-облитерации NO, который играет регулируемую роль в сетчатке и хориоидальном кровотоке.
5. **Медиаторы воспаления.** Появляется все больше свидетельств того, что перинатальное воспаление и инфекция могут усугублять течение ретинопатии недоношенных (Retinopathy of prematurity, ROP) наряду с негармонизированными режимами оксигенации за счет прямых проангиогенных эффектов и/или активации известных факторов риска. Имеются данные о более высоких уровнях воспалительных цитокинов в плазме, включая IL-6, IL-8 и TNF. Более высокие уровни в стекловидном теле воспалительных цитокинов, включая IL-6, IL-7, IL-10, IL-15, и генов, связанных с воспалением (IL1B, фактора некроза опухоли (thetumornecrosisfactor, TNF), IL10, Толл-подобных рецепторов (Toll-like receptor 4, TLR4).
6. **Полученный из мозга нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)** нейрональный трофический фактор в мозге и сетчатке, может способствовать выживанию нейронов при окислительном стрессе.
7. **Ренин-ангиотензиновая система (Therenin-angiotensin system, RAS)** связана с развитием сосудов сетчатки и патологическим ангиогенезом. Блокада RAS ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и блокаторами рецепторов ангиотензина улучшает выживаемость клеток, поэтому ингибирование RAS может быть полезным при неоваскуляризации. Мутации в генах ангиотензин-превращающего фермента (angiotensin-converting enzyme, ACE), ангиотензиногена (angiotensinogen, AGT) и рецептора ангиотензиногена типа 1 (angiotensinogen receptor type 1, AGTR1) могут быть причиной повышенной пролиферации, пока полные генетико-метаболические карты не составлены, однако есть основания полагать, что данные гены-мишени могут быть перспективны для прецизионной терапии.
8. **Ангиопоэтины (Angiopoetins, Ang)** -1 и -2 являются факторами роста, которые необходимы для развития сосудов сетчатки. Ang-1 связывает рецептор тирозинкиназы (tyrosine kinase receptor, Tie2) и способствует созреванию и стабилизации сосудов Ang-2, конкурентный антагонист Ang-1 / Tie-2, что способствует неоваскуляризации.
9. **Эритропоэтин (ЭПО)** гормон, который стимулирует образование эритроцитов в костном мозге, а рецепторы эритропоэтина экспрессируются также в сетчатке, их экспрессия регулируется уровнем оксигенации сетчатки, это косвенно может влиять на ангиогенез сетчатки.
10. **Гипоксия индуцибельный фактор (hypoxia-induced factor, HIF-1)** играет центральную роль в кислородном гомеостазе сетчатки. Было показано, что разрушение *HIF-1* приводит к уменьшению уровня *VEGF*, что может быть использовано в опосредованном таргетном лечении пролиферативного процесса. HIF-1 регулирует транскрипцию генов, таких как VEGF, VEGFR1, тромбоцитарный фактор роста (Platelet-derived growth factor, PDGF), фактор стромальных клеток 1 (stromal cell factor 1, SDF-1) и ANG2, которые играют важную роль в ангиогенезе сетчатки.
11. **Гемоксигеназа-1** играет важную роль в воспалительных реакциях, окислительном стрессе, метаболизме железа и физиологии сосудов. Тем не менее, необходимы подробные исследования функций гена гемоксигеназы-1 (*HMOX1*) для подтверждения этиологии и патогенеза заболевания.
12. **Металлопротеиназа домен 17, ADAM17.** ADAM17-нокаутные мыши показали меньшую неоваскуляризацию при окислительном стрессе.

Целью данной работы являлось создание удобного инструмента для практикующего врача для возможности уточнить прогноз, хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения в будущем. Для этого необходимо было разработать и применить алгоритм анализа молекулярно-генетических данных на основании литературных и собственных данных.

Материалы и методы Из 1210 пациентов, направленных на клиническое и генетическое обследование, в том числе дифференциальную диагностику с 2015 по 2020 г. в НКЦ «Офтальмик» с моногенной глазной патологией или с подозрением на таковую, в том числе пролиферативным синдромом, центральными и периферическими дистрофиями

сетчатки, ретинопатией недоношенных, сахарным диабетом и др. в группу отбора для дальнейшего анализа вошли 86 пациентов с изолированными глазными и/или синдромными признаками пролиферации, которые были разделены на 3 группы: 1) группа моногенной генетической патологии (21 пациент (42 глаза), 14 муж, 7 жен. в возрасте от 4 мес до 43 лет) по результатам клинического и генетического обследования которых молекулярный диагноз моногенного заболевания с пролиферативным компонентом был подтвержден 2) группа пациентов с клиническим диагнозом пролиферативная витреоретинопатия вследствие сахарного диабета (36 пациентов, (72 глаза), 16 муж., 20 жен. в возрасте от 11 до 56 лет) и 3) группа пациентов с клиническим диагнозом ретинопатия недоношенных (29 пациентов, (58 глаз) 10 муж., 19 жен. в возрасте от 3 мес до 12 лет). Срок наблюдения за пациентами составил от 6 до 36 мес.

Применялось лабораторно-диагностическое оборудование для проведения общеклинических, биохимических анализов, высокопроизводительные серверы для обработки геномных данных, моделирования 3D структуры белков и статистических расчетов.

Общеклинический: осмотр терапевта, консультация генетика, сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания, возраста начала и скорости прогрессирования, физикальное обследование, измерение роста, веса, ИМТ, типа телосложения. Сбор и фиксация семейного анамнеза проводились сертифицированным специалистом после прохождения обучения на основе образовательного курса <http://www.genome.gov/Pages/Education/Modules/YourFamilyHealthHistory.pdf> с помощью программных продуктов MicrosoftPowerPoint, CorelDraw или InvitaeFamilyHistorytool.

Клинический инструментальный: включал следующие процедуры: визометрия, рефрактометрия, биомикроскопия, оптическая когерентная томография, периметрия, микропериметрия, пневмотонометрия, офтальмоскопия (с фотофиксацией, в случае пациентов до 1 года применение Retcam под общим наркозом), электроретинография, измерение зрительных вызванных потенциалов, темноваяадаптометрия, аутофлуоресценция, флуоресцентная ангиография, проверка цветовосприятия по таблицам Рабкина и тесту Фарнсуорта/Хью).

Лабораторный: ОАК (общий анализ крови), ОАМ (общий анализ мочи), биохимический анализ крови, анализ на метаболиты, в том числе орнитин, микроэлементы, исключение наследственных болезней обмена.

Гистологический: изучалась экспрессия в клетках фоторецепторов и РПЭ человека, находящихся на подложке с питательной средой, локализация трансфицированного гена RPGR, на 8-й неделе после субретиальной инъекции высокими титрами AAV2/5 с использованием промоторов IRBP (interphotoreceptorretinoid-bindingprotein) и GRK1 (родопсин киназа 1). Анализировались изображения ан фас сканирующей лазерной офтальмоскопии глазного дна с ближней инфракрасной подсветкой (820 нм) (SpecralisHRA + OCT), показывающие флуоресценцию GFP (зеленый флуоресцирующий белок) сетчатки, обработанной 100 мл AAV2/5-IRBP-eGFP при 1×10^{12} мкг/мл. В подмножестве срезов использовались коротковолновая аутофлуоресцентная и отраженная визуализация, чтобы очертить границу слоя РПЭ и фоторецепторов.

Молекулярно-генетический: полноэкзомное секвенирование (WES) и NGS (nextgenerationsequencing) панели, а также секвенирование отдельных генов проводилось путем забора 5 мл. периферической венозной крови, выделения ДНК. Для подготовки библиотек применялись реагенты NexteraRapidCaptureExomev1.2 (Illumina). Секвенирование проводилось на приборе IlluminaNextSeq 500 со средним покрытием 100X. Большие хромосомные аномалии исключались с помощью хромосомного микроматричного анализа (XMA; AffymetrixCytoScanHDarray). Секвенирование по Сэнгеру проводили, чтобы подтвердить обнаруженные мутации. Также проводили анализ сегрегации для доступных членов семьи, следуя протоколу Malaicham.

Биоинформатический анализ и аннотация вариантов выполнялись с использованием стандартных и проприетарных алгоритмов. GATK и пользовательские базы данных применялись для обнаружения как однонуклеотидных вариантов (SNV), малых вставок/делеций, так и вариаций числа копийности (CNV). Эволюционную стабильность аминокислотных остатков определяли с помощью инструмента webPRANK, CDD / SPARCLE и MOTIFSearch, а 3D-структура белка, функциональный анализ и влияние мутаций на заболевание проводились на Phyre2 и с помощью других инструментов.

Статистика: статистическую обработку проводили с использованием пакета программ SPSSStatistica 10.0. Непараметрические данные были проанализированы с помощью одно- и двухфакторного анализа ANOVA, критериев Мана

Уитни, с повторными измерениями, где необходимо, и дальнейшим ретроспективным (post-hoc) анализом (LSD критерий Фишера). Морфометрические данные анализировали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты

По результатам молекулярно-генетического и клинического анализа у 21 пациента был подтвержден диагноз моногенного пролиферативного заболевания сетчатки (Табл.1). Согласно установленному диагнозу пациентам было проведено консультирование и даны рекомендации относительно возможности получить эффективное лечение в будущем (Табл.2, графа “Лечение”).

Таблица 1. Нозологический состав исследуемой группы №1

Диагноз	Количествопациентов
Гольдмана Фавре (синдром повышенного ответа колбочек)	3 (2 муж 1 жен)
Стиклерасиндромтип 1-5	3 (1 муж, 2 жен)
Вагнерасиндром	1 (жен)
Маршаласиндром	1 (муж)
Сахарныйдиабет	36 (16 муж, 20 жен)
Ретинопатиянедоношенных (ROP)	29 (10 муж, 19 жен)
Семейнаяэксудативнаявитреоретинопатия (FEVR)	2 (муж)
Норриболезнь	1 (муж)
Вольфрамасиндром	1 (жен)
Коатсаболезнь	3 (муж)
X-сцепленный ювенильный ретиношизисXLRС	4 (муж)
Аксенфельда-ригерасиндром	2 (жен)

Анализ результатов обнаруженных мутаций во 2-й группе пациентов с клиническим диагнозом “пролиферативная диабетическая витреоретинопатия” (36 пациентов, (72 глаза), 16 муж., 20 жен. в возрасте от 11 до 56 лет) выявил полиморфизм -509C>T в гене *TGFBI* у 2-х пациентов и полиморфизм с.3174G>A в гене *IGF1R* у 3-х пациентов.

При аннотации генетических результатов 3-й группы (29 пациентов, (58 глаз) 10 муж., 19 жен. в возрасте от 3 мес до 12 лет) с клиническим диагнозом “ретинопатия недоношенных 3 или 4 стадия” наиболее частыми были полиморфизмы +13553С>Т (5 пациентов) -634G>С, +405G>С (rs2010963) (3 пациента), -460С>Т (rs833061) (2 пациента) в гене *VEGFA*.

Таблица 2. Моногенные заболевания, сопровождающиеся пролиферативным синдромом и современные подходы к таргетному лечению.

Диагноз / преимущественная локализация	Ген	Тип наследования	Распространенность	Клиническая картина	Лечение (clinical trials)
<i>сетчатка</i>					
ГольдманаФавре (синдром повышенного ответа колбочек)	<i>NR2E3</i>	AR	~1:100000	характеризуется деструкцией стекловидного тела с преретинальными лентовидными нитями (вуалью), макулярными изменениями в виде ретиношизиса или отека и пигментной дегенерацией сетчатки с гемералопией и затухающей электроретинограммой (ЭРГ). Катаракта является осложнением. Диф диагностика с X-сцепленным ретиношизисом и синдромом Вагнера	NCT02435940
Стиклерасиндром тип 1	<i>COL2A1</i>	AD	1:10000	миопия высокой степени, витреоретинальная дегенерация, отслоение сетчатки и катаракта. Также встречается расщелина нёба или раздвоенный язычок), нейросенсорная или кондуктивная потеря слуха, легкая спондилоэпифизарная дисплазия и остеоартрит с ранним началом	NCT00270686
Стиклерасиндром тип 2	<i>COL11A1</i>	AD		пересекается по фенотипу с синдромом Маршала, однако более выражена витреоретинальная дегенерация, аномалии рефракции и развитие катаракты происходит в более раннем возрасте	
Стиклерасиндром тип 3	<i>COL11A1</i>	AD		описывается как не глазная форма синдрома Стиклера, затрагивающая суставы и слух без вовлечения глаз.	
Стиклерасиндром тип 4	<i>COL9A1</i>	AR		нейросенсорная тугоухость от умеренной до тяжелой степени, миопия от	

				умеренной до высокой степени с витреоретинопатией и эпифизарной дисплазией	
Стиклерасиндром тип 5	<i>COL9A2</i>	AR		редкий тип, схож по фенотипу с 4 типом.	
Вагнерасиндром	<i>CSPG2</i> <i>VCAN</i>	AD	<1:1000000	<p>визуально «пустая» полость стекловидного тела с фибриллярной конденсацией или аваскулярными нитями и завесами. Иногда встречается хориоретинальная атрофия с потерей пигментного эпителия сетчатки, решетчатая дегенерация сетчатки, осложненная катаракта, миопия слабой степени и периферическое перерастяжение сетчатки.</p> <p>Электроретинография показывает снижение амплитуды b-волны и коррелирует с тяжелой хориоретинальной патологией. Также встречается прогрессирующая никталопия, сужение полей зрения и хориоретинальная атрофия с затухающей ЭРГ, ранее выделялся суб-фенотип «эрозивная витреоретинопатия».</p>	NCT00270686
Маршаласиндром	<i>COL11A1</i>	AD	<1:1000000	<p>гипоплазия средней части лица, расщелина неба, глазные аномалии, в том числе миопия и катаракта, нейросенсорная тугоухость, невысокий рост со спондилоэпифизарной дисплазией и артропатия. В отличие от синдрома Стиклера II типа менее серьезные глазные проявления, но явно выражен глазной гипертелоризм, гипоплазия верхнечелюстной области и эктодермальные аномалии.</p>	NCT00270686
Сахарный диабет	<i>IGF1</i>	AR	1:5000	различная форма и агрессивность пролиферативной ретинопатии при	NCT00446381 и др.

				различных формах сахарного диабета. Различные подходы к лечению в зависимости от типа и стадии заболевания	
<i>хориоидея</i>					
Ретинопатия недоношенных (ROP) [2,3]	<i>VEGF, VEGFA, VEGFR2</i>		1:5000	различная интенсивность пролиферативного процесса при ретинопатии недоношенных зависит от выраженности триггерных факторов внешней среды, а также генетической предрасположенности	много подходов в зависимости от типа и стадии заболевания
Семейная экссудативная витреоретинопатия (FEVR)	<i>FZD4</i>	AD	~1:1000000	наследственное заболевание с неполноценным развитием сосудистой сети сетчатки. Клинические проявления могут значительно различаться даже в одной семье у разных ее членов, от слабовидения с младенчества, до субклинических проявлений аваскулярности периферической зоны сетчатки без каких-либо проблем со зрением (выявляется на ФАГ). Считается, что эта периферическая бессосудистость является первичной аномалией и является результатом дефектного ангиогенеза сетчатки. Опасные для зрения особенности фенотипа FEVR считаются вторичными по отношению к аваскулярности сетчатки и развиваются из-за возникающей ишемии сетчатки; они включают развитие ликеджа кровеносных сосудов, неоваскуляризацию, витреоретинальные тракции и отслойки сетчатки.	NCT00106756
Норриболезнь	<i>NDP</i>	XLR	~1:1000000	характеризуется очень ранней детской слепотой из-за дегенеративных и	n/a

				<p>пролиферативных изменений нейроретины. Приблизительно у 50% пациентов могут наблюдаться психические расстройства, часто с психотическими признаками, и примерно у одной трети пациентов развивается нейросенсорная глухота во втором десятилетии жизни. Кроме того, у некоторых пациентов есть более сложные фенотипы, включая нарушение роста и эпилептические приступы.</p>	
Вольфрамасиндром	<i>WFS1</i>	AR	~1:1000000	<p>также известен как симптомокомплекс: несахарный диабет, атрофия зрительного нерва и глухота (DIDMOAD). Дополнительные клинические особенности могут включать нарушения функции почек, атаксию, деменцию или умственную отсталость, а также различные психические заболевания. Проллиферативный синдром сетчатки при данном заболевании вторичен и вызван диабетической ретинопатией.</p>	<p>NCT02841553 NCT03951298</p>
<i>стекловидное тело</i>					
Коатсабелезнь	<i>NDP</i>	XLR	~1:1000000	<p>также известна как телеангиэктазия сетчатки, представляет собой спорадическое заболевание, характеризующееся дефектом сосудистого развития сетчатки, которое приводит к ликеджу сосудов, субретинальному выпоту и отслойке сетчатки. Изначально телеангиэктазии наблюдаются в сетчатке секторально и на этой стадии может не вызывать нарушений зрения. Однако последующая отслойка сетчатки</p>	<p>NCT03940690 NCT04310631</p>

				часто приводит к прогрессирующей потере зрения. В своей классической форме болезнь Коатса почти всегда наблюдается у мужчин и, в отличие от других форм телеангиэктазий сетчатки, часто является односторонней.	
X-сцепленный ювенильный ретиношизис XLR S	<i>RSI</i>	XLR	1:5000	дистрофия сетчатки, которая приводит к расщеплению (шизису) нейроретины, что приводит к снижению остроты зрения у мужчин. Это состояние является причиной почти всех врожденных ретиношизисов. Ретиношизис происходит преимущественно во внутренних слоях сетчатки и очень отличается от отслойки сетчатки, которая происходит между слоем нейрорезпителя и пигментным эпителием сетчатки.	NCT02416622 NCT02317887
<i>роговица/ переднийотрезок</i>					
Аксенфельда-ригерасиндром тип 1	<i>PITX2</i>	AD		дисгенез угла передней камеры глаза, приводящий к офтальмогипертензии. Глазными признаками являются микрокорнеа с помутнением роговицы, гипоплазия радужной оболочки и передние синехии, данное заболевание является примером пролиферативного процесса переднего отрезка глаза.	NCT01793168
Аксенфельда-ригерасиндром тип 3	<i>FOXC1</i>	AD	~1:1000000		

AD – аутосомно-доминантный, AR – аутосомно-рецессивный, XLR – X-сцепленный рецессивный типы наследования

Обсуждение результатов

Разработан проприетарный алгоритм биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования, позволяющий уточнять прогноз течения и тяжести пролиферативного процесса с учетом клинических и генетических данных. В работу алгоритма включен анализ наличия мутаций в генах, прямо или косвенно участвующих в процессе ангиогенеза и основных сигнальных путей. Частично список генов представлен в Табл.3. Данный молекулярно-генетический анализ проводится в рамках LDT (laboratorydevelopedtest) и имеет свои ограничения при применении в практическом здравоохранении.

Таблица 3. Список генов, участвующих в пролиферативных процессах.

Ген	Описание функции и локализации гена	
<i>VEGF</i>	vascular endothelial growth factor	фактор роста эндотелия сосудов
<i>ACE</i>	angiotensin I converting enzyme	ангиотензин I превращающий фермент
<i>AGTR1</i>	angiotensin II receptor type 1	рецептор ангиотензина II типа 1
<i>BDNF</i>	brain derived neurotrophic factor	нейротрофический фактор мозга
<i>CETP</i>	cholesteryl ester transfer protein	белок переноса эфира холестерина
<i>CFH</i>	complement factor H	фактор комплемента H
<i>COL2A1</i>	collagen type II alpha 1 chain	альфа 1 цепь коллагена 2-го типа
<i>COL9A1/A2</i>	collagen type IX alpha 1/2 chain	альфа 1/2 цепь коллагена 9-го типа
<i>COL11A1</i>	collagen type XI alpha 1 chain	альфа 1 цепь коллагена 11-го типа
<i>VCAN (CSPG2)</i>	versican	версикан
<i>EPAS1</i>	endothelial PAS domain protein 1	эндотелиальный белок PAS домена 1
<i>GP1BA</i>	glycoprotein Ib platelet subunit alpha	гликопротеин Ib тромбоцитов субъединица альфа
<i>LRP5</i>	LDL receptor related protein 5	Белок, связанный с рецептором ЛПНП 5
<i>NOS3</i>	nitric oxide synthase 3	синтаза оксида азота 3
<i>FZD4</i>	frizzled class receptor 4	рецептор по типу "завиток", класс 4
<i>IHH</i>	Indian hedgehog signaling molecule	сигнальная молекула индийского ежа
<i>NDP</i>	norrin cystine knot growth factor NDP	фактор роста норрин, цистиновый узел
<i>RS1</i>	retinoschisin 1	ретиношизин 1
<i>TBX5</i>	T-box transcription factor 5	T-бокс транскрипционный фактор 5
<i>TLR5</i>	toll like receptor 5	Toll подобный рецептор 5
<i>TSPAN12</i>	tetraspanin 12	тетраспанин 12
<i>HIF-1</i>	hypoxia-induced factor	гипоксия-индуцибельный фактор
<i>PDGF</i>	тромбоцитарный фактор роста	platelet-derived growth factor
<i>PIGF</i>	плацентарный фактор роста	placental growth factor

Разработанный алгоритм позволяет оказать клиницисту помощь в точной дифференциальной диагностике разрыв хориоидеи, рубцовой фазы токсоплазмоза, последствий токсокароза (помимо анализов на инфекции и содержание антител), друз диска зрительного нерва, гамартом, мультифокального хориоидита, саркоидоза, Болезни Беста и других.

В будущем в зависимости от лидирующего патофизиологического пути пролиферации у конкретного пациента будет применяться блокатор (или активатор ингибитора) причинного состояния, как на сегодня успешно применяется anti-*VEGF*и анти-*PIGF* терапия и проводятся успешные попытки применения низкомолекулярного лечения AGX51 [7].AGX51 является первым в своем классе антагонистом семейства белков pan-Id (ингибиторы ДНК-связывающих / дифференцирующих белков). AGX51 ингибирует взаимодействие Id1-E47, что приводит к убиквитин-опосредованной деградаци, задержке роста клеток и снижению их жизнеспособности, ингибирует патологическую неоваскуляризацию глаза.

Выводы

Для возможности уточнять прогноз хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением усовершенствованного алгоритма анализа полученных данных.

Список литературы

1. Rivera JC, Dabouz R, Noueihed B. et al. Ischemic Retinopathies: Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017; 7:p.16 <https://doi.org/10.1155/2017/3940241>
2. Chen JF., Zhang S., Zhou R. et al. Adenosine receptors and caffeine in retinopathy of prematurity. *Mol Aspects Med*. 2017;55:118–125. doi:10.1016/j.mam.2017.01.001.
3. Swan R, Kim SJ, Campbell JP. et al. The genetics of retinopathy of prematurity: a model for neovascular retinal disease. *Ophthalmol Retina*. 2018;2(9):949–962. doi:10.1016/j.oret.2018.01.016.
4. Kim S.J., Port A.D., Swan R. et al. Retinopathy of Prematurity: A Review of Risk Factors and their Clinical Significance. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(5):618–637. doi:10.1016/j.survophthal.2018.04.002.
5. Nashwa S.Z., Khair M., Ismail A.S., et al. Detection of FZD4, LRP5 and TSPAN12 genes variants in Malay premature babies with retinopathy of prematurity. *J Ophthalmic Vis Res* 2019;14(2):171–178 doi:10.4103/jovr.jovr_210_17
6. Selvam S., Kumar T., Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Progress in Retinal and Eye*. 2017;11:1-4. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.11.001
7. Wojnarowicz P.M., Silva R.L., Ohnaka M. A Small-Molecule pan-Id antagonist inhibits pathologic ocular neovascularization. *Cell Rep*. 2019;29(1):62–75. doi:10.1016/j.celrep.2019.08.073.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЕТЕЙ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

Балашова Л.М.^{1,2}, Лесовой С.В.², Колесниченко И.И.³, Кузнецова Ю.Д.^{1,2}, Кантаржи Е.П.^{1,2}, Салмаси Ж.М.¹

¹ФГАОУ ВО Российский Национальный Исследовательский Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

²НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

³Институт физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина Российской академии наук, Москва

Аннотация. Разработана методика- экспресс скрининга состояния образцов сыворотки крови недоношенных детей методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии. Показано, что действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии III+ на пики токов Cd и Pb меньше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии, а также недоношенных со стадией ретинопатии I и доношенных без ретинопатии. Показано, что действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I на пики токов Cd и Pb больше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии и сыворотки крови доношенных без ретинопатии; однако действие сыворотки крови доношенных без ретинопатии меньше, чем действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I Показано, что данные всех групп достоверно различаются между собой.

Ключевые слова: мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, сыворотка крови, ретинопатия, планарные электроды

The study of blood serum of premature infants with retinopathy using the method of multisensory inversion voltammetry.

L.M.Balashova^{1,2}, S.V.Lesovoy¹, I.I.Kolesnichenko³, Yu.D.Kuznetsova^{1,2}, E.P.Kantargy^{1,2}, G.M.Salmasi¹

¹N.I. Pirogov Russian National Research University, Ministry of Health of Russia, Moscow

²International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

³A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS (IPCE). Moscow.

Abstract: A technique has been developed for rapid screening of the condition of blood serum samples of premature infants by the method of multisensory inversion voltammetry. It has been shown that the effect of the blood serum of premature infants with retinopathy stage III+ on the peaks of Cd and Pb currents is less than the blood serum of premature infants with the risk of retinopathy, as well as premature infants with retinopathy stage I and full-term infants without retinopathy. It has been shown that the effect of the blood serum of premature infants with retinopathy stage I on the peaks of Cd and Pb currents is greater than that of the blood serum of premature infants with the risk of retinopathy and the blood serum of full-term infants without retinopathy; However, the effect of the blood serum of full-term infants without retinopathy is less than the effect of the blood serum of premature infants with stage I retinopathy, it is shown that the data of all groups significantly differ from each other.

Keywords: multisensory inversion voltammetry, blood serum, retinopathy, planar electrodes

Ретинопатия недоношенных одно из самых тяжелых заболеваний детей раннего возраста, нередко приводящих к слепоте и слабовидению и прогрессирующее в течении всей жизни с периодическими обострениями. Диагностика системных заболеваний проводится как правило, путем микробиологических и химических исследований проб с целью установления биохимических маркеров заболевания, однако являются достаточно трудоемкими и длительными.

В ИФХЭ РАН разработан один из вариантов электрохимических методов анализа органических веществ – мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия [1-10]. Ранее экспресс-диагностики биологических объектов с использованием мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии был опробован нами для ранней диагностики глаукомы по сыворотке крови [2]. Для выяснения эффективной дозировки вновь разрабатываемых офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени.

Материалы и методы. Была обследована сыворотка крови детей с ретинопатией недоношенных (РН) (5 детей с риском развития РН, 4 ребенка с I активной стадией РН, 5 детей с III+ стадией РН) и в качестве группы сравнения 5 доношенных детей со сроком гестации от 38 до 40 недель того же возраста в весе от 3 до 4 кг и подобными недоношенным соматическими заболеваниями. Стадия РН определялась по худшему глазу.

Забор сыворотки крови производился в операционной во время введения ребенка в наркоз.

Недоношенные дети имели в анамнезе перинатальное поражение центральной нервной системы II-III степени, анемию недоношенных, внутриутробную пневмонию с дыхательной недостаточностью 1-3 степени, ишемическое поражение перивентрикулярной области, внутрижелудочковые кровоизлияния II-III степени, некротизирующий энтероколит, изменение гемодинамики в связи с пороками развития сердечно-сосудистой системы. Выхаживание этих детей происходило с использованием кислорода от нескольких суток до 1 месяца, в единичных случаях – дольше.

Метод мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии.

На планарные электроды фирмы «Автоком» наносили 50 мкл тест-системы состоящей из 0,05 М КС1 в котором находились катионы металлов Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} в концентрации $5 \cdot 10^{-5} M$, затем снимали инверсионную вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов минус 1,55В относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой в анодную сторону до потенциала до 0,3 В. Полученная вольтамперограмма являлась фоновой. Затем на электрод помещали 50 мкл тест-системы и 5мк сыворотки крови. [9-10]

Результаты исследования.

Сравнение групп детей.

Таблица 1 Недоношенные со стадией ретинопатии III+

	№	цвет.	пол	Гестац.возр.	Возр. после рожд.	вес	Стад. ретин..	Пики токов растворения металлов, мкА				
								Zn	Cd	Pb	Cu	Hg
Фон					недели		–	18,4	66	85	56	140
Сыво ротка 5мкл	1	желт.	ж	26	8.5	600	III+	0,5	5	14	2	12
	2	желт.	м	31	6	1050	III+	0	4	5	1	7
	3	свет.жел.	м	28	5	850	III+	7	11	35	8	30
	4	свет.жел	ж	25	5	680	III+	1	0,2	1,4	1	7,2
	5	блед.жел	ж	24	6	650	III+	4,5	4	22,4	3,5	25,2
\bar{x}								2,6	4,8	15,8	2,9	16,3

Таблица 2 Недоношенные со стадией ретинопатии 1

	№	цвет.	пол	Гестац.возр.	Возр. после рожд.	вес	Стад. ретин..	Пики токов растворения металлов, мкА				
								Zn	Cd	Pb	Cu	Hg
Фон					недели		–	18,4	66	85	56	140
Сыво ротка 5мкл	1	Тем.жел.	м	27	8.5	990	I	4	3.0	10	4	20
	2	прозр.	м	28	5	1400	I	0,4	12.0	16,4	2,4	20
	3	розов.	м	21	7	790	I	1	4	14	3	14
	4	Светло-красн.	ж	27	9	1025	I	1,0	3.0.	14	4	21
x̄								1.6	5.6	13.6	3.4	19

Таблица 3 Недоношенные с риском ретинопатии

	№	цвет.	пол	Гестац.возр.	Возр. После Рожд.	вес	Стадия ретин.	Пики токов растворения металлов, мкА				
								Zn	Cd	Pb	Cu	Hg
Фон					Недел		–	18,4	66	85	56	140
Сыво ротка 5мкл	1	Ярко-желт.	м	30	8	770	Риск ретин.	0,4	3.8	10	1.2	19,4
	2	блед.жел.	м	32	7	1740	Риск ретин	0.2	2,9	0.2	0.24	26
	3	блед.жел	ж	24	7	580	Риск ретин	0,2	2,7	0,4	0.6	9.6
	4	блед.жел	м	26	6	910	Риск ретин	0.1	5,8	3	2	19
	5	желт.	ж	25	4	820	Риск ретин	1,0	14,8	22	35	20
x̄							0.3	6,2	7.1	7.8	19,5	

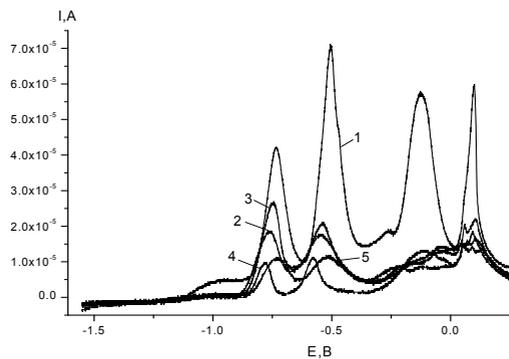


Рис.1 Влияние сыворотки крови детей на тест-систему.

1-тест-система; 2- недоношенные с риском ретинопатии; 3- доношенные без ретинопатии с воспалительными заболеваниями как у недоношенных; 4-недоношенные со стадией ретинопатии III+; 5-недоношенные со стадией ретинопатии I

Табл.4 Дети донош. без ретинопатии с воспалительными заболеваниями после рождения как у недоношенных

	№	цвет.	пол	Патолог.	Стадретин	Пики токов растворения металлов, мкА				
						Zn	Cd	Pb	Cu	Hg
Фон					—	18,4	66	85	56	140
Сыво ротка 5мкл	1	Темн. желт.	ж	Сепсис	Здор.	2	11	16	3	23
	2	Темн. желт.	ж	Врожд. Пневмон.	здор	2	12	17	3	63
	3	Желт	ж	Пневмон.	Здор.	1,2	16	13	2	18
	4	Светло красн.	м	Невролог. Забол. без восполит.заб.	Здор.	0,2	6	8	1	12,5
	5	Светло-красн.	м	Невролог. Забол. без восполит.заб.	Здор.	1	1	4,2	1	10
\bar{x}						1,3	9,2	11,6	2,7	34,7

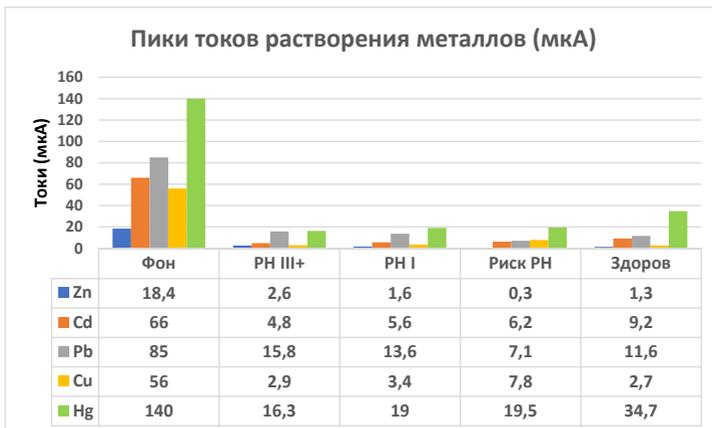


Рис.3. Пики токов растворения металлов у детей с ретинопатией недоношенных.

Проведенный анализ различий средних значений пиков растворения металлов (ППП Statistica) между группами выявил значимое различие ($p < 0,05$) для всех металлов, кроме: Cd в группах РН I и риск РН $p > 0,05$ и Hg – между теми же группами $p > 0,05$ (рис 2.,3).

Погрешность задания-измерения потенциала, -0,5%; погрешность измерения тока – 0,5%

Была рассмотрена группа недоношенных детей. Были подсчитаны средние значения и доверительные интервалы по наиболее характерным металлам для использованной тест-системы по этим группам. Недоношенные со стадией ретинопатии III+ степени (см. табл.1); недоношенные со стадией ретинопатии I степени (см. табл.2), недоношенные с риском ретинопатии (см. табл.3), дети доношенные. без ретинопатии с воспалительными процессами (см. табл.4),

Были подсчитаны средние значения по этим группам и доверительные интервалы (при $t=2,02$; $\alpha=0,1$)

1. Недоношенные со стадией ретинопатии 3+ (см. табл.1), $n=5$ Cd $\bar{x}^- = 14,1$ мка; $\delta=0,5$

Pb $\bar{x}^- = 15,8$ мка; $\delta=0,6$

2. Недоношенные со стадией ретинопатии I (см. табл.2), $n=4$ Cd $\bar{x}^- = 5,8$ мка; $\delta=0,16$

Pb $\bar{x}^- = 13,6$ мка $\delta=0,5$

3. Недоношенные с риском ретинопатии (см. табл.3), $n=5$ Cd $\bar{x}^- = 2,3$ мка; $\delta=0,05$

Pb $\bar{x}^- = 7,1$ мка $\delta=0,6$

4. Дети доношенные. без ретинопатии (см. табл.4), $n=3$ Cd $\bar{x}^- = 9,2$ мка; $\delta=0,5$

Pb $\bar{x}^- = 11,6$ мка $\delta=0,6$

Показано, что данные всех групп достоверно различаются между собой.

Показано, что действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии III+ на пики токов Cd $\bar{x}^- = 14,1$ мка; Pb $\bar{x}^- = 15,8$ мка меньше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии Cd $\bar{x}^- = 2,3$ мка; Pb $\bar{x}^- = 7,1$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии III+ на пики токов Cd $\bar{x}^- = 14,1$ мка; Pb $\bar{x}^- = 15,8$ мка меньше, чем сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I Cd $\bar{x}^- = 5,8$ мка; Pb $\bar{x}^- = 13,6$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии III+ на на пики токов Cd $x^- = 14,1$ мка; Pb $x^- = 15,8$ мка меньше, чем сыворотки крови доношенных без ретинопатии Cd $x^- = 9,2$ мка; Pb $x^- = 11,6$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I на на пики токов Cd $x^- = 2,3$ мка; Pb $x^- = 7,1$ мка больше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии Cd $x^- = 5,8$ мка; Pb $x^- = 13,6$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии на на пики токов Cd $x^- = 5,8$ мка; Pb $x^- = 13,6$ мка меньше, чем сыворотки крови доношенных без ретинопатии Cd $x^- = 9,2$ мка; Pb $x^- = 11,6$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I на на пики токов Cd $x^- = 2,3$ мка; Pb $x^- = 7,1$ мка больше, чем сыворотки крови доношенных без ретинопатии Cd $x^- = 9,2$ мка; Pb $x^- = 11,6$ мка

Действие сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии на пики токов Cd $x^- = 2,3$ мка; Pb $x^- = 7,1$ мка больше, чем сыворотки крови доношенных без ретинопатии Cd $x^- = 9,2$ мка; Pb $x^- = 11,6$ мка

На рис.1 показано влияние на тест-систему сыворотки крови детей с разными стадиями ретинопатии, а также доношенных детей без ретинопатии. Для графика использовали средние значения токов (x^-), указанные в табл.1-4

Наиболее сильное влияние на тест-систему оказывает сыворотка крови недоношенных со стадией ретинопатии III+; слабее действует сыворотка крови недоношенных со стадией ретинопатии I; еще слабее сыворотка крови недоношенных с риском ретинопатии и еще слабее сыворотка крови детей доношенных. без ретинопатии.

Разнообразно окрашенные сыворотки крови недоношенных детей представлены на рис.2 А, Б, В. Более светлые сыворотки крови в образцах недоношенных детей с риском ретинопатии недоношенных (В).

Выводы

1. Показано, что действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии III+ на на пики токов Cd и Pb меньше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии, а также недоношенных со стадией ретинопатии I и доношенных без ретинопатии
2. Показано, что действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I на на пики токов Cd и Pb больше, чем сыворотки крови недоношенных с риском ретинопатии и сыворотки крови доношенных без ретинопатии; однако действие сыворотки крови доношенных без ретинопатии меньше, чем действие сыворотки крови недоношенных со стадией ретинопатии I
3. Показано, что данные всех групп достоверно различаются между собой (Statistica 6).
4. Проведенный анализ различий средних значений пиков растворения металлов (ППП Statistica) между группами выявил значимое различие ($p < 0,05$) для всех металлов, кроме: Cd в группах PH I и риск PH $p > 0,05$ и Hg – между теми же группами $p > 0,05$

Список литературы

1. Андреев В.Н., Ганшин В.М., Доронин А.Н., Луковцев В.П. Способ электрохимического мультисенсорного обнаружения и идентификации алкалоидов. Патент РФ №2375705, Оpubл. 10.12.2009
2. Колесниченко И.И., Ганшин В.М., Клюев А.Л., Доронин А.Н., Луковцев В.П., Кантаржи Е.П., Андреев В.Н. Исследование возможности метода инверсионной вольтамперометрии для анализа летучих компонентов сыворотки крови в целях медицинской диагностики. Научные труды четвертой международной научно-практической конференции «Измерения в современном мире – 2013». СПб., ФГБОУ ВПО СПб ГПУ, 2013, С.189-198.
3. Колесниченко И.И., Клюев А.Л., Ганшин В.М., Кантаржи Е.П. и др. Экспресс-скрининг биологических объектов с использованием мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии с распознавания образов//Методы исследования физико-химических систем по защите металлов и физической химии поверхностей. 2014, Т.50, №4, С.543-547.
4. Колесниченко И.И., Доронин А.А., Луковцев В.П., Кантаржи Е.П. Экспресс-скрининг состояния биологических объектов в зависимости от времени их хранения. Сборник научных трудов 5-й Всероссийской научно-практической конференции «Измерения в современном мире-2015», СПб., ФГБОУ ВПО СПб ГПУ, 2015, С.141-146

5. Колесниченко И.И., Кантаржи Е.П., Балашова Л.М. Многомерная статистика в оценке состояния биологических объектов методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии. *Фундаментальные физико-математические проблемы и моделирование технико-технологических систем*. Вып.17, 2016, М., С.103-114.
6. Kolesnichenko I.I., Balachova L.M., Kantarzhi E.P. Express Screening of Biological Objects Using Multisensor Stripping Voltamperometry with Pattern Recognition // *American Journal of Analytical Chemistry*, 2016, №7, P. 588-596
7. Балашова Л.М., Колесниченко И.И., Кантаржи Е.П., Доронин А.Н. Использование метода мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии для определения антиоксиданта визомитина в слезной жидкости. *Сборник научных трудов 6-й Всероссийской научно-практической конференции «Измерения в современном мире-2017»*, СПб., ФГБОУ ВПО СПб ГПУ, 2017, С.33-37.
8. A Multisensory Stripping Voltammetry Method for Analysis of the Generic Anti-Glaucoma. Drug Betoptic. L. M. Balashova, I. I. Kolesnichenko, V. A. Namiot, A. N. Doronin, *Biophysics*, 2019, Vol. 64, No. 6, pp. 885–889.
9. Балашова Л.М. Колесниченко И.И., Кантаржи Е.П. Определение визомитина методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии. // *Клиническая геронтология*. 2017г, Т.23 № 9-10, с.6-8
10. Колесниченко И.И. Балашова Л.М., Кантаржи Е.П. Использование метода мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии для определения в слезной жидкости противоглаукомного препарата бетоптик у пожилых людей. *Е.П* 2017г, Т.23 № 9-10, с.36-37



Рис. 2 А, Б, В. Сыворотки крови детей с активной фазой ретинопатией недоношенных: I стадии, III+ стадии и риском ретинопатии недоношенных

МУЛЬТИСЕНСОРНАЯ ИНВЕРСИОННАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ

при исследовании плазмы крови и жидкости передней камеры глаза у доношенных детей с врожденной офтальмопатологией - катарактой и глаукомой - с учетом уровней Т-регуляторных клеткок $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ в крови.

Балашова Л.М.*****, Намиот В.А.**, Колесниченко И.И.***, Кузнецова Ю.Д.*****, Лесовой С.В.******, Балашов А.А.*,

Черкашин Д.Р.*, Кантарджи Е.П.* Быковская С.Н.****, Салмаси Ж.М.****

*НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей,

**Институт ядерной физики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,

***Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН,

****Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ,

*****Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы детская городская клиническая больница имени Н.Ф.Филатова Департамента здравоохранения города Москвы. Москва, Россия

Аннотация

Подтверждена принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного устройства «Электронный язык», основанного на использовании метода инверсионной вольтамперометрии для оценки плазмы крови и жидкости передней камеры пациентов в целях медицинской диагностики. Образцы плазмы крови детей, больных катарактой и глаукомой с количественным определением Т-регуляторных клеткок $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ по-разному влияют на характер инверсионных вольтамперограмм по сравнению с соматически здоровыми детьми (контролем). Это дает возможность разработать методику оценки состояния плазмы крови у детей с врожденной офтальмопатологией.

Ключевые слова: офтальмология, мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, Т-регуляторные клетки $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$, плазма крови, жидкость передней камеры, катаракта, глаукома.

A multisensory stripping voltammetry method for analysis of blood plasma and eye anterior chamber fluid, taking into account the blood levels of T-regulatory $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ in full-term children with congenital ophthalmopathy cataract and glaucoma

L.M. Balashova*****, V.A. Namiot**, I.I. Kolesnichenko***, Yu.D. Kuznetsova*****, S.V. Lesovoy* *****, A.A. Balashov*,

D.R. Cherkashin*, E.P. Kantardji*, S.N. Bykovskaja ****, G.M. Salmasi****

*International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation,

**Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University,

***Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences

****Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Moscow, Russia

Abstract

The principal possibility of application of the electrochemical Multisensor device "Electronic language" based on the use of the method of inversion voltammetry for evaluation of blood plasma and fluid of anterior chamber of patients for medical diagnosis is shown. Blood plasma samples of newborn children with cataract, glaucoma and health children have different effects on the nature of inversion voltammograms, due to changes in composition. This makes it possible to develop a methodology for assessing the state of these in ophthalmology.

Keyword

Ophthalmology, multisensor inversion voltammetry, planar electrodes, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$, blood plasma, fluid of anterior chamber, cataract, glaucoma, health children.

В отличие от существующих мультисенсорных систем в разработанном методе мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии (1) используется один индикаторный электрод, а роль сенсоров выполняет набор катионов металлов, находящихся в растворе в виде тест-системы. Анализируемые органические вещества образуют с металлами комплексы, а методом инверсионной вольтамперометрии определяется изменение активности катионов металлов. Это дает возможность определять концентрацию органических веществ. Существует возможность для определения одновременно ряда органических веществ, поскольку в растворе находится несколько металлов.

Целью явилось исследование плазмы крови и жидкости передней камеры глаза детей до 1 года жизни с катарактой, глаукомой и доношенных соматически здоровых детей с помощью метода **мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии** (электронного носа).

Материал и методы.

Измерения проводились в растворе 0.05M KCl, содержащем катионы Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Co^{3+} , Hg^{2+} в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М. В этом растворе снималась фоновая инверсионная вольтамперограмма в отсутствии пробы. При контакте органических соединений с металлами тест-системы образуются комплексы. Эти изменения в составе раствора фиксируются инверсионной вольтамперограммой [2]. При определении неизвестных органических веществ необходимо провести поиск оптимального соотношения между концентрациями тест-системы и органическими веществами. В ряде случаев большие концентрации металлов тест-системы могут быть нежелательны, поскольку при электроосаждении на электроде могут образовываться сплавы и в связи с этим чувствительность определения органических веществ может уменьшаться. *Вольтамперограмма – многомерный образ первичных данных*

Экспериментальная часть

Измерения проводились на планарных электродных системах (ООО "Автоком" г. Москва). Электрод представлял собой полипропиленовую пластину размером 25·10мм, на которую нанесены углеродной пастой индикаторный, вспомогательный электроды а также хлорсеребряный электрод сравнения.

На электроды наносили 50 мкл раствора тест-системы. Затем снимали инверсионную вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов (**Cd, Pb, Cu и Hg**) (минус 1.55В) относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В, затем на электрод наносили 5мкл раствора сыворотки крови, которую предварительно разбавляли фоном в концентрации $1,7 \cdot 10^{-2}$ мкл. Снимали вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов (минус 1.55В) относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В. Получали инверсионные вольтамперограммы для плазмы крови детей.

Всего было обследовано 52 ребенка (95 глаз) в возрасте до 1 года. Из них 12 детей (20 глаз) с врожденной катарактой, 13 детей (21 глаз) с врожденной глаукомой и 27 здоровых доношенных детей (54 глаза) того же возраста.

Детям были произведено стандартное **офтальмологическое** обследование.

Исследование **Т-регуляторных кдеток** $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ было проведено у 79 недоношенных детей с ретинопатией и 27 здоровых доношенных детей того же возраста. Особое внимание нами было уделено исследованию Т-регуляторных кдеток $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ (таблица 1). Исследование произведено совместно с профессором С.Н.Быковской в Отеле клеточных технологий и регенеративной медицины ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России.

Произведено иммунофенотипирование клеток периферической крови, включая Т регуляторные клетки (Т-рег):

1. Забор крови у детей из вены на операционном столе во время оперативного вмешательства под общим обезболиванием. Периферическую кровь отбирали в пробирки с антикоагулянтом К3EDTA (Greiner Bio One, Austria).
2. Лизирование эритроцитов производили при помощи лизирующего буфера Red Blood Cell Lysing buffer (Life technologies, США) по протоколу производителя. Клетки в количестве 5×10^6 из осадка ресуспендировали в 200 мкл фосфатного буферного раствора.

3. Т-рег клетки периферической крови пациентов и доноров метили при помощи Treg detection staining cocktail (Miltenyi Biotec, Германия) по протоколу производителя. Количество Трег определяли методом проточной цитометрии на цитометре MACS Quant (Miltenyi iBiotec).

При **статистической обработке** полученных результатов использовался критерий Стьюдента (программа Statistica 7) и модуля «Вероятностный калькулятор».

Результаты и их обсуждение.

Приведены результаты исследования количества Т-регуляторных клеток $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ в крови (заданные характеристики) и данных мультисенсорной инверсионной вольтамперметрии в плазме крови, жидкости передней камеры детей до 1 года (табл.1, рис.4-8).

Образцы сыворотки крови взрослых и плазмы детей (рис.1), а также плазмы крови детей, больных катарактой и глаукомой по-разному влияют на характер инверсионных вольтамперограмм тест-системы (рис.2).

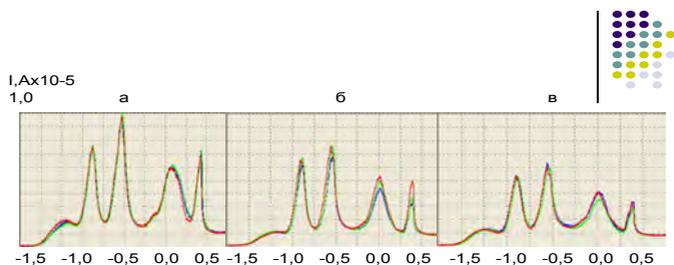
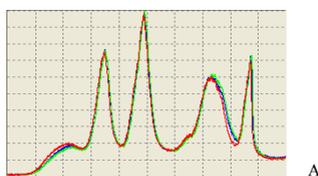
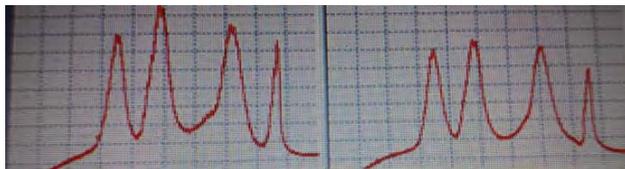


Рисунок 1. Вид вольтамперограмм. (а) тест-система, (б) влияние на тест-систему сыворотки крови предположительно здоровых взрослых людей, (в) влияние на тест-систему плазмы крови детей.



А



В,С

Рис.2. Вид вольтамперограмм. А- тест-система, В- влияние на тест-систему плазмы крови детей с глаукомой, С- влияние на тест-систему плазмы крови детей с катарактой.

Вид вольтамперограмм жидкости передней камеры представлены на рисунках 3.

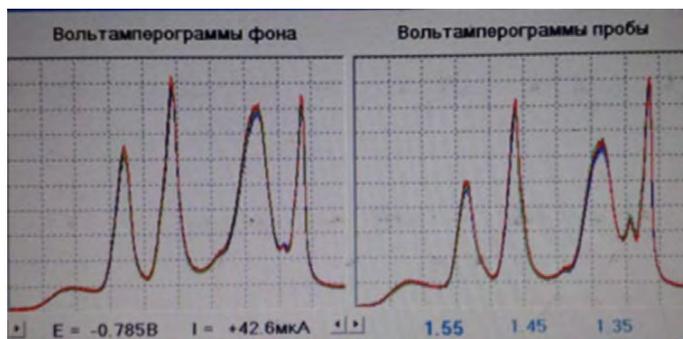


Рис.3. Вид вольтамперограмм слева – тест-система, справа – влияние жидкости передней камеры пациента на тест-систему.

Как видно на рисунке 1, кривые вольтамперограмм сыворотки и плазмы крови доношенных соматически здоровых детей значительно отличаются. Наблюдается также значительное различие кривых вольтамперограмм у доношенных детей с врожденной глаукомой и катарактой (рис.2). Вид вольтамперограммы жидкости передней камеры представлен на рисунке 3.

Как известно, вольтамперограмма – это зависимость тока от потенциала рабочего электрода, меняющегося по линейному закону во времени. Пики соответствуют окислению металлов тест-системы. Цифровые значения (453 точки) поступают в программу для последующей обработки в виде файла, из которого извлекаются значения тока. Вольтамперограмма разбивается на N участков, количество которых зависит от сложности исследуемой системы. Как очевидно, вольтамперограммы значительно различаются при исследовании богатой белками плазмы крови (пики токов несколько ниже, чем при исследовании сыворотки крови) и жидкости передней камеры по высоте пиков тока (соответствующих, вероятно, образованию комплексов с ионами различных металлов).

В таблице 1 представлены средние значения Т-регуляторов $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ у доношенных детей с катарактой, глаукомой, а также доношенных соматически здоровых детей.

Таблица 1

T-регуляторы при врожденных катаракте, глаукоме у доношенных детей и доношенных соматически здоровых детей.

Признак Группа	Возраст (мес.)	Срок гестации (нед.)	Масса тела при рождении (г)	Иммунофенотип CD4 ⁺ CD25 ^{high} Foxp3 ⁺ CD127 ^{low} (%) Трег
Доношенные врожденная глаукома (n=13) M±s (Std.Dev)	4,4±3,0	3,±1,2	3684±1,1	2,8±0,7 (без 1 высокок есного-5300г, T-per=5,7))
Доношенные врожденная катаракта (n=12) M±s (Std.Dev)	5,0±1,8	39,5±1,0	3786±900,4	3,1±0,6
Доношенные СОМАТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫЕ ДЕТИ (N=27) M±s(Std.Dev)	4,8±2,1	39,3±0,9	3524,5±705,4	3,24±1,0

Как видно из таблицы, при исследовании T-регуляторов у доношенных детей нет достоверных различий ($p > 0,05$) в целом у соматически здоровых, больных врожденной катарактой и врожденной глаукомой.

На рисунке 4 представлены количество Т-регуляторов у детей различного веса при рождении с врожденной катарактой

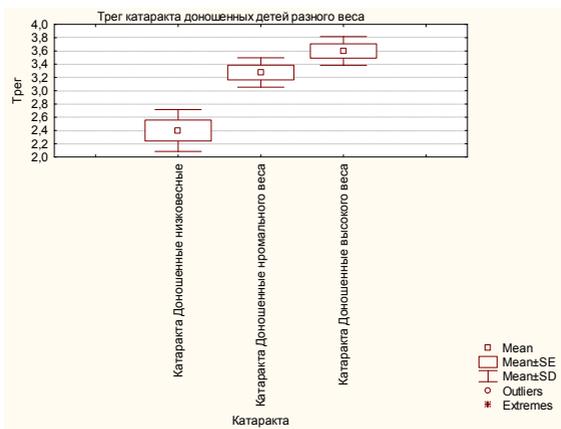


Рис.4. Количество Т-рег ($CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$) у доношенных детей различного веса при рождении с врожденной катарактой

Обнаруживаются статистически достоверные различия ($p < 0,01$) у больных с низким и нормальным ($p = 0,04$), нормальным и высоким ($p = 0,02$) весом при рождении у доношенных детей с врожденной катарактой. Количество детей в группах представлено в равных соотношениях (33,3%; 33,3%; 33,4%).

На рисунке 5 в виде усиковой диаграммы представлены количественные значения Т-регуляторов у детей различного веса при рождении с врожденной глаукомой.

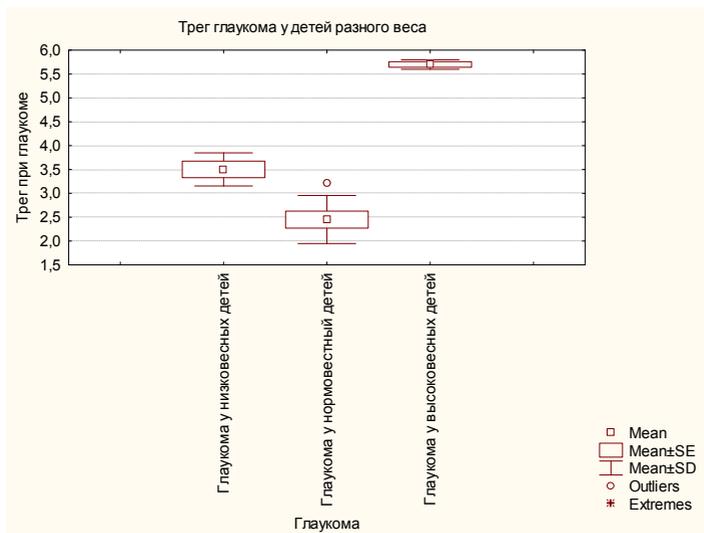


Рис.5. Количество Т-рег ($CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$) у доношенных детей различного веса при рождении с врожденной глаукомой

Как показано на рисунке 5, отмечается статистически достоверное различие ($p=0,0001$) в сторону повышения количества Т-регуляторов при высоком весе при рождении и понижению количества Т-регуляторов ($p=0,07$) при нормальном весе при рождении у больных с врожденной глаукомой (доношенных). У больных с низким весом средние значения несколько повышены по сравнению с нормовесными ($p<0,05$; рис.8). Количество детей в группах представлено в неравных соотношениях (низковесные – 30,8%; нормовесные – 61,5%; высоковесные – 7,7%). Преобладают дети нормального веса при рождении с несколько пониженным количеством Т-регуляторов ($CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$).

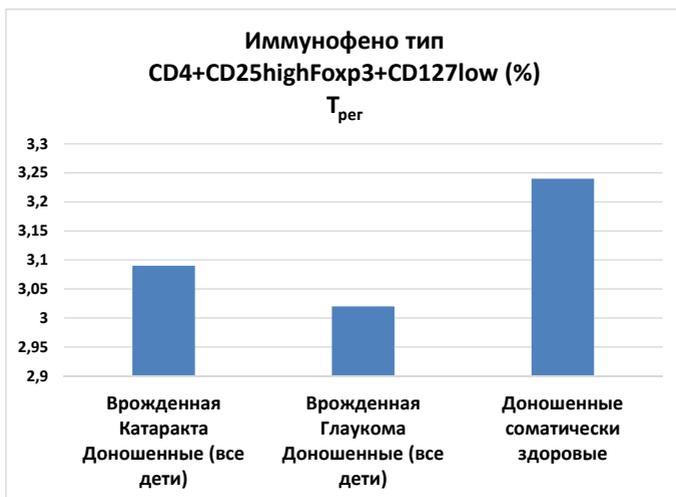


Рис.6 . Количество Т-регуляторов у доношенных детей с врожденными катарактой, глаукомой и доношенных соматически здоровых.

Из представленных данных на рисунке 6 видно, что при исследовании по Стьюденту и при сравнении различий средних значений при одностороннем и двустороннем тесте нет достоверных различий между доношенными детьми: здоровыми, с врожденной катарактой и глаукомой ($p > 0,05$). С включением высоковесного ребенка среднее значение Т-рег при глаукоме составляет $3,02 \pm 1,03$ % ($p > 0,05$). Остальные количественные данные представлены в табл.1.

При объединении доношенных детей с врожденными катарактой и глаукомой по весу (рис.7) были выявлены статистически достоверные различия между детьми с дефицитом веса при рождении, нормальным весом при рождении и повышенным весом при рождении ($p \leq 0,05$).

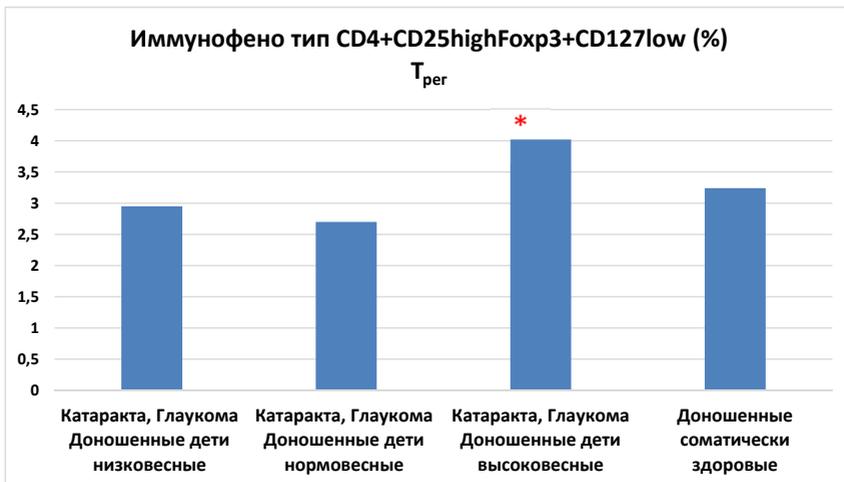


Рис.7. Количественные показатели T-рег при распределении доношенных детей с катарактой, глаукомой по весу в сравнении доношенными соматически здоровыми детьми с нормальным весом.

При сравнении нормовесных и низковесных доношенных детей, страдающих катарактой, либо глаукомой, и высоковесных выявлено достоверное отличие ($p=0,002$ и $p=0,02$), причем как правило чем выше вес ребенка, тем выше значения T-регуляторов (прямая корреляционная зависимость) (рис.7). При сравнении всех нормовесных с нормой (доношенными соматически здоровыми детьми) $p=0,05$. Более низкие нормальные значения T-рег выявлены при глаукоме (на рисунке 8 различия между детьми разного веса по количеству T-рег представлено более подробно).

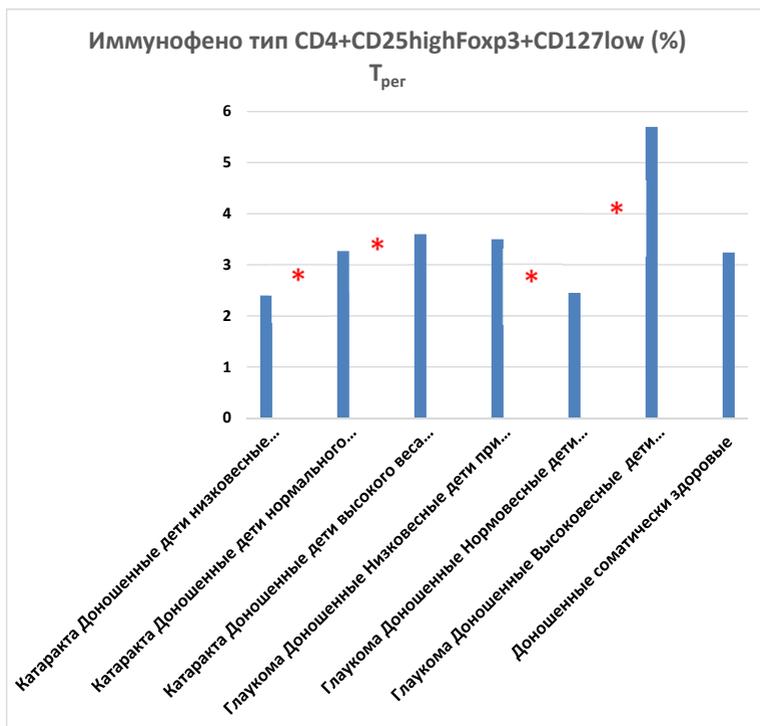


Рис.8 Количественные показатели T-reg по весу у доношенных детей с врожденной катарактой, глаукомой и соматически здоровых детей нормального веса.

Выявлены статистически достоверные различия ($p < 0,05$) по количеству T-регуляторов ($CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$) у больных с различным весом при рождении (рис.8). Отклонения от нормального веса при врожденной катаракте у доношенных детей отмечается у 2/3, при глаукоме – у 39%.

Заключение. При обследовании детей до 1 года были обнаружены существенные различия по количеству T-reg $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ внутри групп по весовой категории при врожденной катаракте и глаукоме у доношенных детей (что позволило их разделить на подгруппы).

Показана принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного анализа, основанного на методе инверсионной вольтамперометрии в формате “Электронный нос”, и выявлены различия при исследовании плазмы крови, жидкости передней камеры в целях медицинского скрининга офтальмопатологии. Вольтамперограммы сыворотки крови, плазмы крови и жидкости передней камеры также существенно отличаются друг от друга.

Выводы.

1. При проведении статистических исследований по Стьюденту и при сравнении различий средних значений при одностороннем и двустороннем тесте (программа «Вероятностный калькулятор») нет достоверных различий по количеству T-регуляторов $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ между доношенными соматически здоровыми детьми, детьми с врожденной катарактой и глаукомой ($p > 0,05$).

2. Обнаружены существенные различия по количеству Т-регуляторов CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} при врожденной катаракте и глаукоме у доношенных детей различной весовой категории (p<0,05). Отклонения от нормального веса и количеству Т-регуляторов (в среднем) при врожденной катаракте у доношенных детей отмечается в 66,7%. При глаукоме отклонения от нормального веса выявлены в 39%. У детей с глаукомой с нормальном весом при рождении выявлены более низкие средние значения Т-рег CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} по сравнению с соматически здоровыми доношенными детьми, при низком и высоком весе в среднем - несколько повышенные (p<0,05).

3. Показана принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного устройства «Электронный язык», основанного на использовании метода мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии, в целях медицинской диагностики.

4. Вольтамперограммы плазмы крови и жидкости передней камеры у детей существенно различаются между собой. Различаются по высоте пиков вольтамперограммы плазмы крови у больных детей, страдающих катарактой и глаукомой.

Список литературы.

1. Сравнительная оценка клеточного иммунитета у взрослых, пожилых людей и детей / Л.М. Балашова, С.Н. Быковская, Ю.Д. Кузнецова [и др.] // **Клиническая геронтология.** – 2010. – Т. 16. – №11-12. – С.77.
2. Нарушения показателей клеточного иммунитета у взрослых, пожилых людей, соматически здоровых детей и детей, больных глаукомой / Л.М. Балашова, С.Н. Быковская, Ю.Д. Кузнецова [и др.] // **Клиническая геронтология.** – 2012. – Т.18. – №11-12. – С. 76-77.
3. 1. I.I. Kolesnichenko, L.M. Balachova, E.P. Kantarzhi. Express Screening of Biological Objects Using Multisensor Stripping Voltamperometry with Pattern Recognition. // **American Journal of Analytical Chemistry**, 2016, 7, 588-596.

**МЕТОД МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ПРИ
ИССЛЕДОВАНИИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ЛУЦЕНТИС И ЭЙЛИА, ПРЕПЯТСТВУЮЩИХ
НОВООБРАЗОВАНИЮ СОСУДОВ**

Балашова Л.М.* **, Бакунина Н.А.* **, Намиот В.А.***, Колесниченко И.И.****, Кузнецова Ю.Д.* **, Лесовой С.В.**,
Салмаси Ж.М.*

*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ,

**НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей,

***Институт ядерной физики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

****Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия.

Резюме.

Новым электрохимическим методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии изучена возможность определения препаратов препятствующих новообразованию сосудов лувентис и эйлия. Методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии рассматривалось изменение концентрации препаратов лувентис и эйлеа, которые вводятся в стекловидное тело глаз. Показано, что этот метод эффективен для определения указанных препаратов. Рассмотрена динамика изменения их концентрации. Расширен класс органических веществ, которые определяются методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии.

Ключевые слова: мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, планарные электроды, анти-VEGF препараты, эйлеа, лувентис.

Multisensory Method Stripping Voltammetry in the Analysis of Generic Anti-Glaucoma Drug Betoptic

Balashova L.M.* **, Bakunina N.A.* **, Namiot V.A.***, Kolesnichenko I.I.****, Kuznetsova Yu.D.* **, Lesovoy S.V.**,
Salmasi G.M.*

*Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation

**International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation,

***Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University,

****Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences. Moscow, Russia.

Resume.

A new electrochemical method for multi-touch Stripping voltammetry studied the possibility of determining antiVEGF drugs eilea, lucentis. Measurements were carried out on a planar electrode, which is a three-electrode structure. It is shown that this method is effective for the determination of these drugs. The dynamics of changes in their concentration over time is considered. The class of organic substances, which are determined by the method of multisensory inversion voltammetry, is expanded

Keywords: multisensor inversion voltammetry, planar electrodes, antiVEGF drugs, eilea, lucentis

Основное действие препаратов эйлеа, лувентис связано с подавлением пролиферации эндотелиальных клеток, ростом новообразованных сосудов хориоидеи и эскудации из них. Среди электрохимических методов анализа, одним из наиболее информативных является метод инверсионной вольтамперометрии (МИВ) [1-11].

Ранее экспресс-диагностики биологических объектов с использованием мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии был опробован нами метод для ранней диагностики глаукомы по сыворотке крови [4]. В дальнейшем работоспособность и эффективность метода была показана нами, в частности, при определении ряда офтальмологических препаратов – визомитина [5, 6], ланостерола [7], бетоптика и его дженериков [8,9], а также местноанальгезирующих препаратов – наропина, хирокаина и лидокаина [10]. Для выяснения эффективной дозировки вновь разрабатываемых офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени.

Целью данной работы было физико-химическое исследование препаратов лувентис (Ranibizumab) и эйлеа (Afliberceptum). Основное действие препаратов эйлеа, лувентис связано с подавлением пролиферации эндотелиальных клеток, ростом новообразованных сосудов хориоидеи и эскудации из них. эйлеа, лувентис останавливают прогрессирование неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулярной дегенерации (нВМД). Развитие хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ), включая ХНВ вследствие паталогической миопии (ПМ), и уменьшает макулярный отек (МО) вследствие диабетической ретинопатии (ДР) или окклюзии (тромбоза) вен сетчатки (ОВС), сопровождающийся снижением остроты зрения.(ОЗ). Методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии рассматривалось изменение концентрации препаратов лувентис и эйлеа, которые вводятся в стекловидное тело глаз.

Афлиберцепт (Afliberceptum) (торговое наименование **Эйлеа**, Eylea) — лекарственный препарат, относящийся к группе анти-VEGF и обладающий широкой областью применения в офтальмологии (неоваскулярная («влажная») возрастная макулярная дегенерация, диабетический макулярный отек (ДМО), макулярный отек, развившийся вследствие окклюзии центральной вены сетчатки или ее ветвей, миопическая хориоидальная неоваскуляризация). Фармакологическое действие - противоопухольевое, ингибирующее неоангиогенез. Афлиберцепт входит в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Молекула афлиберцепта представляет собой рекомбинантный гибридный белок, состоящий из фрагментов внеклеточных доменов человеческих рецепторов к VEGF 1 и 2 типов, соединенных с Fc-фрагментом человеческого иммуноглобулина G (IgG). Брутто-формула: $C_{4318}H_{6788}N_{1164}O_{1304}S_{32}$. Афлиберцепт производится с помощью технологии рекомбинантной ДНК. Афлиберцепт является химерным гликопротеином с молекулярной массой 97 кДа, гликозилирование белка добавляет 15% к общей молекулярной массе, в результате чего общая молекулярная масса афлиберцепта составляет 115 кДа.. Страна происхождения: Германия (Веттер Фарма-Фертигунг ГмбХ Байер); форма выпуска: раствор для внутриглазного введения.

Афлиберцепт действует как растворимый рецептор-ловушка (VEGF Eye-Trap), который связывает VEGF-A (сосудистый эндотелиальный фактор роста А) с более высокой аффинностью, чем естественные рецепторы или другие препараты (к примеру, ранибизумаб). Помимо этого, афлиберцепт является единственным препаратом, способным связывать плацентарный фактор роста (PlGF), также вовлеченный в патогенез заболеваний сетчатки. Молекула афлиберцепта имеет увеличенный период выведения из глаза, что позволяет говорить о более длительном клиническом эффекте. Согласно опубликованным данным продолжительность супрессии внутриглазного VEGF после интравитреального введения афлиберцепта в 2 раза превышает данный показатель у препарата ранибизумаб. Большая продолжительность действия препарата является важным фактором, способствующим снижению общего количества требуемых инъекций для терапии хронических заболеваний сетчатки.

Лувентис (Lucentis®). Раствор для внутриглазного введения прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или очень слабо окрашенный. Производитель: Новartis Фарма Штейн АГ, Швейцария. *активное вещество* : ранибизумаб (Ranibizumab*) *вспомогательные вещества*: α,α-трегалозы дигидрат — 100/23 мг; L-гистидина гидрохлорида моногидрат — 1,66/0,382 мг; L-гистидин — 0,32/0,074 мг; полисорбат 20 — 0,1/0,023 мг; вода для инъекций — до 1/0,23 мл. Фармакологическое действие — ингибирующее ангиогенез. Механизм действия Ранибизумаб избирательно связывается с изоформами эндотелиального фактора роста сосудов, VEGF-A (VEGF₁₁₀, VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅), и предотвращает взаимодействие VEGF-Ас его рецепторами на поверхности клеток эндотелия (VEGR₁ и VEGR₂), что приводит к подавлению неоваскуляризации и пролиферации сосудов. Подавляя рост новообразованных сосудов хориоидеи в сетчатку, ранибизумаб

останавливает прогрессирование экссудативно-геморрагической формы возрастной макулярной дегенерации (ВМД) и макулярного отека при сахарном диабете и окклюзии (тромбоз) вен сетчатки.

Препарат вводится в стекловидное тело глаза специальной иглой. В среднем курс лечения продолжается два года и составляет около пяти инъекций в год (от 3 до 12). Основные данные исследований RESTORE и RESOLVE, а также результаты независимого исследования, проведенного в США Сетью клинических исследований по диабетической ретинопатии, показали, что острота зрения у пациентов, получавших лечение ранибизумабом в сочетании с лазерной терапией, через 12 месяцев улучшилась в среднем на 9 баллов по сравнению с исходным моментом, тогда как у пациентов, получавших только лазерную терапию, улучшение остроты зрения составило в среднем от трех до четырех баллов. Показания препарата. лущентис: лечение неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулярной дегенерации у взрослых; лечение снижения остроты зрения, связанного с диабетическим отеком макулы в качестве монотерапии или в сочетании с ЛК у пациентов, у которых ранее проводилась ЛК; лечение снижения остроты зрения, вызванного отеком макулы вследствие окклюзии вен сетчатки (ЦВС или ее ветвей); лечение снижения остроты зрения, вызванного хориоидальной неоваскуляризацией, обусловленной патологической миопией.

Материал и методы

Одной группе больных неоваскулярной (влажной) формой возрастной макулярной дегенерации (нВМД) препарат лущентис вводили в стекловидное тело глаза специальной иглой. Второй группе больных, неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулярной дегенерации (нВМД) препарат эйлеа вводили в стекловидное тело глаза специальной иглой - такова методика введения, на которой мы подробно не останавливаемся. Исследования препаратов эйлеа и лущентис осуществляли с помощью электрохимического мультисенсорного анализатора, разработанного в ИФХЭ РАН. Общий вид анализатора ЭЛ-02 и схема планарной электродной системы были представлены в работах [4,5,6]. Для обнаружения и идентификации препаратов эйлеа и лущентис формировали тест-системы, в которых использовали растворы следующих солей: нитраты ртути, цинка, кадмия, свинца, меди, кобальта.. Исследования проводили на планарных электродах (ООО «КолорЭлектроникс»), представляющих собой полипропиленовую пластину с нанесенными электродами (углеродный материал) и хлорсеребряным электродом сравнения. Схема планарного электрода представлена в работе [4]. Так как планарные электроды являются одноразовыми, производить подготовку поверхности индикаторного электрода не требовалось.

Результаты и обсуждение

Влияние лущентиса на тест-систему. На рис. 1 показаны фоновая вольтамперограмма и вольтамперограммы, полученные для лущентиса в различных концентрациях *in vitro*. Можно видеть, что в присутствии лущентиса токи ионов металлов, входящих в тест-систему, изменяются в разной степени в зависимости от концентрации лущентиса.

Влияние лущентиса на токи растворения металлов тест-системы можно объяснить двумя причинами. Первая – способность лущентиса образовывать комплексы с металлами, вторая – адсорбция вещества на электроде. Обе эти причины приводят к затруднению процессов электровосстановления и электроокисления металлов. Комплексы могут оказаться не электроактивными, вследствие чего выделение из них металлов на электроде будет затруднено. В этом случае количество электроосажденных металлов на электроде уменьшается, что вызывает последующее уменьшение токов электрорастворения. На образование комплексов металлов с веществами влияют различные причины: pH раствора, наличие различных анионов, величина концентрации металлов. Те же условия влияют на токи растворения электроосажденных металлов. Важным критерием выбора фонового электролита является степень влияния вещества на пики токов растворения металлов тест-системы. В исследованном диапазоне концентраций лущентиса наиболее заметным было изменение тока ионов меди и свинца. Показано, что влияние препаратов эйлеа и лущентис наблюдается в основном на токи таких металлов как медь и свинец; токи этих металлов уменьшаются: меди от 32 до 6 мкА, свинца от 58 до 20 мкА. Что позволяет сделать вывод о том, что препараты влияют на тест-систему. Данные по воздействию лущентиса на тест-систему приведены в табл. 1.

Аналогичным образом изучалось влияние концентрации эйлеа на тест-систему, указанного состава. (Рис.2, табл.2)

В процессе проведения исследований было отмечено, что препарат эйлеа по сравнению с лущентисом очень быстро (в течение 1,5 часов) разлагается при взаимодействии с тест-системой используемого состава 0.05 М КС1 в котором

находились катионы металлов Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} . Влияние лувентиса на тест-систему значительно дольше – более 3-6 часов. Выявлено, что эйлеа – это менее стойкий препарат по сравнению с лувентисом. Показано, что влияние препаратов эйлеа и лувентиса наблюдается в основном на токи таких металлов как медь и свинец; токи этих металлов уменьшаются: меди от 32 до 6 мкМ, свинца от 58 до 20 мкМ. (Рис.1 кривые 2-5; Рис.2 кривые 2-5) Что позволяет сделать вывод о том, что препараты влияют на тест-систему. Метод мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии, позволяет анализировать в формате «Электронный язык» влияние различных офтальмологических препаратов на слезную жидкость во времени, очень небольшая часть препарата при выведении иглы из стекловидного тела попадает в слезу. Показано, что препарат эйлеа по сравнению с лувентисом, очевидно, быстро разлагается при взаимодействии с тест-системой используемого состава.

Выводы

1. Показано, что влияние препаратов лувентиса и эйлеа, тормозящих рост эндотелия сосудов (антиVEGF препараты), наблюдается в основном на токи таких металлов как медь и свинец; токи этих металлов уменьшаются: меди от 32 до 6 мкМ, свинца от 58 до 20 мкМ. Что позволяет сделать вывод о том, что препараты воздействуют на тест-систему.
2. Определено уменьшение влияния препарата эйлеа на тест-систему через 1,5 часа. Влияние лувентиса на тест-систему значительно дольше – более 3-6 часов. Выявлено, что эйлеа – это менее стойкий препарат по сравнению с лувентисом.

Список литературы

1. Х. З. Брайнина, Е. Я. Нейман и В. В. Слепушкин, *Инверсионные электроаналитические методы* («Химия», М., 1988).
2. Г. К. Будников, В. Н. Майстренко и М. Р. Вяселев, *Основы современного электрохимического анализа* («Мир», М., 2003).
3. В. Н. Андреев, В. М. Ганшин, А. Н. Доронин и др., Патент на изобретение № 2375705 от 22.08.2008.
4. И. И. Колесниченко, А. Л. Клюев, В. М. Ганшин и др., *Физикохимия поверхности и защита материалов* **50** (4), 440 (2014).
5. И. И. Колесниченко, Е. П. Кантаржи и А. Н. Доронин, в сб. *Труды 6-й Всероссийской науч.-практич. конф. «Измерения в современном мире – 2017»* (СПбПУ, СПб., 2017), сс. 33–37.
6. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко и Е. П. Кантаржи, *Клин. геронтология* **23** (9–10), 6 (2017).
7. Л. М. Балашова, В. А. Намиот, И. И. Колесниченко и др., *Биофизика* **63** (4), 825 (2018).
8. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко, В. А. Намиот и др., *Биофизика* **64** (6), 1088 (2019).
9. I. I. Kolesnichenko, L. M. Balachova, and E. P. Kantarzhi, *Am. J. Anal. Chem.* **7** (7), 588 (2016).
10. Л. М. Балашова, В. А. Намиот, И. И. Колесниченко и др., *Биофизика* **65** (6), 1211 (2020).
11. Г. Л. Шлефер, *Комплексообразование в растворах* («Химия», М., 1964).

Таблица 1. Влияние луцентиса на тест-систему

	Концентрация луцентиса	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон	–	16	45	58	32	40	80
луцентис	10%	21	42	55	10	30	50
	20%	15	30	45	11	25	40
	40%	10	25	30	9	20	25
	60%	10	15	20	5	7	10

Таблица 2. Влияние эйлиа на тест-систему

	Концентрация эйлиа	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон	–	16	45	58	32	40	80
эйлиа	10%	10	40	54	25	21	70
	20%	10	30	45	15	15	60
	30%	9	25	35	10	10	45
	40%	9	20	30	10	13	30

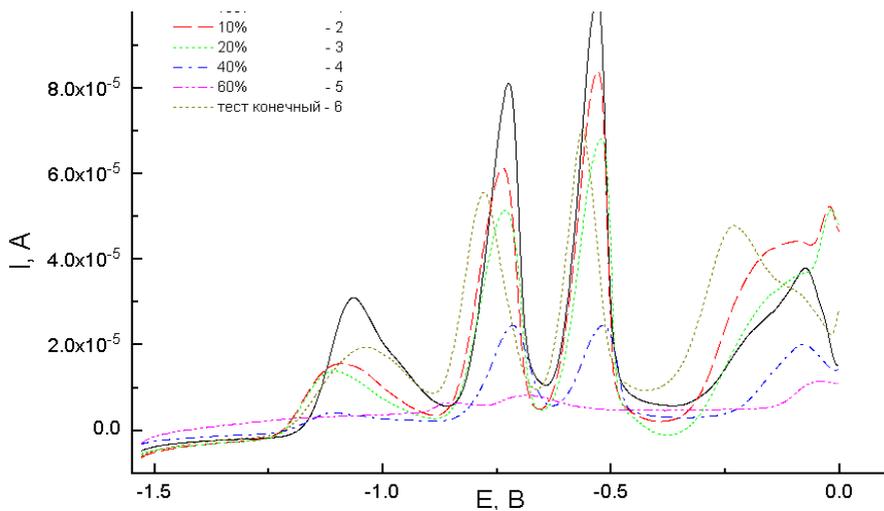


Рис.1 Инверсионные вольтамперограммы тест-системы с люциферин концентрация (%): 6- тест-система; 2-10; 3-20; 4-40 ; 5-60 ; .

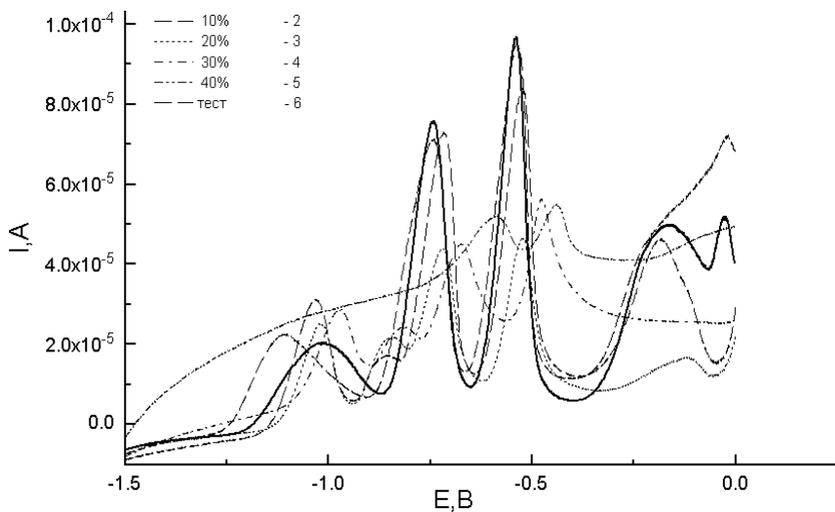


Рис.2 Инверсионные вольтамперограммы тест-системы с эйлеа концентрация (%): 6- тест-система; 2-10; 3-20; 4-30 ; 5-40 ; .

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ, ЖИДКОСТИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА И СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ИНВЕРСИОННОЙ МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ У ДЕТЕЙ

С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ И ВРОЖДЕННОЙ КАТАРАКТОЙ С ЗАДАННЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И ИССЛЕДОВАНИЯМИ, В ТОМ ЧИСЛЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ В КРОВИ Т-РЕГУЛЯТОРОВ CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} и VEGF A.

Балашова Л.М.*****, Намиот В.А.**, Колесниченко И.И.***, Кузнецова Ю.Д.*****, Лесовой С.В.*****, Балашов И.А.*,
Черкашин Д.Р.*, Кантарджи Е.П.*, Быковская С.Н.****, Салмаси Ж.М.****

*НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей,

**Институт ядерной физики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,

***Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН,

****Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ,

*****Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы детская городская клиническая больница имени Н.Ф.Филатова Департамента здравоохранения города Москвы. Москва, Россия.

Аннотация

Показана принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного устройства «Электронный язык», основанного на использовании метода инверсионной вольтамперометрии для оценки плазмы крови, жидкости передней камеры и стекловидного тела пациентов в целях медицинской диагностики. Образцы плазмы крови детей, больных катарактой и ретинопатией недоношенных с количественным определением Т-регуляторных клеток CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} по-разному влияют на характер инверсионных вольтамперограмм. Это дает возможность разработать методику оценки состояния плазмы крови у детей с офтальмопатологией.

Ключевые слова: офтальмология, мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, Т-регуляторные клетки CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low}, плазма крови, жидкость передней камеры, стекловидное тело, ретинопатия недоношенных, катаракта.

A multisensory stripping voltammetry method in the study of blood plasma and eye anterior chamber fluid and vitreous body, taking into account the blood level of T-regulatory cells CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} and VEGF A in baby with retinopathy of prematurity and cataract

L.M. Balashova***, V.A. Namiot**, I.I. Kolesnichenko***, Yu.D. Kuznetsova*****, S.V. Lesovoy*,*****, I.A. Balashov*,
D.R. Cherkashin*, E.P. Kantardji*, S.N. Bykovskaja*****, G.M. Salmasi*******

*International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation

**Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University,

***Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences,

****Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia

Abstract

The principal possibility of application of the electrochemical Multisensor device "Electronic language" based on the use of the method of inversion voltammetry for evaluation of blood plasma, fluid of anterior chamber, corpus of patients for medical diagnosis is shown. Blood plasma samples of newborn children with cataract and retinopathy of prematurity have different effects on the nature of inversion voltammograms, due to changes in composition. This makes it possible to develop a methodology for assessing the state of these in ophthalmology.

Keywords

Ophthalmology, multisensor inversion voltammetry, planar electrodes, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low}, blood plasma, fluid of anterior chamber, corpus, newborn children.

В ИФХЭ РАН разработан электрохимический метод анализа органических веществ- мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия (МИВ)[1].

В отличие от существующих мультисенсорных систем в разработанном методе используется один индикаторный электрод, а роль сенсоров выполняет набор катионов металлов, находящихся в растворе (тест-система). Анализируемые органические вещества образуют с металлами комплексы, а методом инверсионной вольтамперометрии определяется изменение активности катионов металлов, что дает возможность определять концентрацию органических веществ. Поскольку в растворе находится несколько металлов, то это дает возможность определять одновременно ряд органических веществ.

Целью явилось исследование плазмы крови, жидкости передней камеры глаза и стекловидного тела детей до 1 года жизни с ретинопатией недоношенных (РН), катарактой и здоровых доношенных детей с помощью метода **мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии** (электронного носа) в сочетании с исследованием Т-регуляторных клеток и антиVEGF-фактора в крови.

Материал и методы.

Измерения проводились в растворе 0.05M KCl, содержащем катионы $Zn^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Co^{3+}, Hg^{2+}$ в концентрации $5 \cdot 10^{-5}M$. В этом растворе снималась фоновая инверсионная вольтамперограмма в отсутствии пробы. При контакте органических соединений с металлами тест-системы образуются комплексы. Эти изменения в составе раствора фиксируются инверсионной вольтамперограммой [2]. При определении неизвестных органических веществ необходимо провести поиск оптимального соотношения между концентрациями тест-системы и органическими веществами. В ряде случаев большие концентрации металлов тест-системы могут быть нежелательны, поскольку при электроосаждении на электроде могут образовываться сплавы и в связи с этим чувствительность определения органических веществ может уменьшаться. *Вольтамперограмма – многомерный образ первичных данных*

Экспериментальная часть

Измерения проводились на планарных электродных системах (ООО “Автоком” г. Москва). Электрод представлял собой полипропиленовую пластину размером 25-10мм, на которую нанесены углеродной пастой индикаторный, вспомогательный электроды а также хлорсеребряный электрод сравнения.

На электроды наносили 50 мкл раствора тест-системы. Затем снимали инверсионную вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов (**Cd, Pb, Cu и Hg**) (минус 1.55В) относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В, затем на электрод наносили 5мкл раствора сыворотки крови, которую предварительно разбавляли фоном в концентрации $1,7 \cdot 10^{-2}$ мкл. Снимали вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов (минус 1.55В) относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В. Получали инверсионные вольтамперограммы для плазмы крови детей.

Всего было обследовано 118 детей (232 глаза) в возрасте до 1 года. Из них 79 детей (158 глаз) детей с ретинопатией недоношенных, 12 детей (20 глаз) с врожденной катарактой и 27 здоровых доношенных детей (54 глаза) того же возраста.

Детям были произведены типичное **офтальмологическое** обследование.

Исследование **Т-регуляторных клеток** $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ было проведено у 79 недоношенных детей с ретинопатией и 27 здоровых доношенных детей того же возраста. Особое внимание нами было уделено исследованию Т-регуляторных клеток $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ (таблица 1). Исследование произведено совместно с профессором С.Н.Быковской в Отеле клеточных технологий и регенеративной медицины ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России.

Произведено иммунофенотипирование клеток периферической крови, включая Т регуляторные клетки (Т-рег):

1. Забор крови у детей из вены на операционном столе во время оперативного вмешательства под общим обезболиванием. Периферическую кровь отбирали в пробирки с антикоагулянтom К3ЕDТА (Greiner Bio One, Austria).

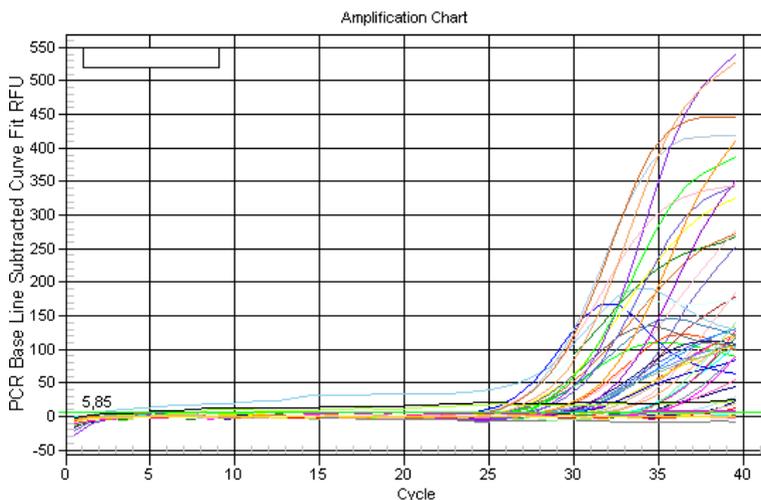
2. Лизирование эритроцитов производили при помощи лизирующего буфера Red Blood Cell Lysing buffer (Life technologies, США) по протоколу производителя. Клетки в количестве 5×10^6 из осадка ресуспендировали в 200 мкл фосфатного буферного раствора.

3. Т-рег клетки периферической крови пациентов и доноров метили при помощи Treg detection staining cocktail (Miltenyi Biotec, Германия) по протоколу производителя. Количество Трег определяли методом проточной цитометрии на цитометре MACS Quant (Miltenyi iBiotec).

Исследование экспрессии гена VEGF А производилось с использованием стандартной программы в ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России.

PCR Quantification Data

PCR Amp/Cycle Chart



При статистической обработке полученных результатов использовался критерий Стьюдента и модуля «Вероятностный калькулятор».

Результаты и их обсуждение.

Приведены результаты исследования количества Т-регуляторных клеток $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ в крови и данных мультисенсорной инверсионной вольтамперметрии в плазме крови, жидкости передней камеры и стекловидном теле.

На рисунке 1 построенная линия тренда указывает на значительное снижение количественного показателя Т-регуляторных клеток практически во всех стадиях, кроме ЗАРН по сравнению с контролем, и особенно во II (как далее будет представлено, во II+) и V стадиях заболевания. Обращает на себя внимание, что у больных с задней агрессивной формой заболевания, обнаруживаемой в достоверно более ранние сроки ($p < 0,01-0,05$) по сравнению с другими стадиями РН, Т-регуляторные клетки $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$ выявляются чаще в немного повышенных и нормальных количествах в отличие от остальных стадий ретинопатии ($p < 0,05$), хотя встречаются больные и с пониженными значениями (табл. 1, рис.1-3). Можно предположить, что задняя агрессивная форма РН имеет и другие ведущие патогенетические механизмы, возможно связанные с генетическими нарушениями.

Таблица 1

T-регуляторы при разных стадиях ретинопатии недоношенных, врожденной катаракте и доношенных соматически здоровых детей.

Признак Подгруппа	Возраст (мес.)	Срок гестации (нед.)	Масса тела при рождении (г)	Иммунофено тип CD4 ⁺ CD25 ^{high} Foxp3 ⁺ CD127 ^{low} (%)
РН I стадия (n=9) M±s(Std.Dev.)	2,9±1,6	28,9±2,1	1110±396,2	2,3±1,1
РН II стадия (n=10) M±s(Std.Dev.)	2,9±1,1	29,1±1,8	1150±380,0	2,2±1,2
РН III+стадия (n=20) M±s(Std.Dev.)	3,1±1,4	28,7±2,8	1284,5±394,6	2,4±1,2
РН IV стадия (n=12) M±s(Std.Dev.)	3,4±1,3	29,0±2,2	1345,0±405,5	2,6±0,9
РН V стадия (n=19) M±s(Std.Dev.)	6,1±3,2**	27,7±2,0	985,0±317,2*	2,4±1,0
ЗАРН (n=9) M±s(Std.Dev.)	2,4±1,3*	29,4±1,6	1297,1±455,6	3,6±0,7**
Доношенные СОМАТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫЕ ДЕТИ (N=27) M±s(Std.Dev.)	4,8±2,1	39,3±0,9	3524,5±705,4	3,24±1,0**
Врожденная катаракта (n=12) M±s(Std.Dev.)	5,0±1,8	39,5±1,0	3786±900,4	3,1±1,1**
P	p<0,05 (между стадиями ретинопатии)	p>0,05 (между стадиями ретинопатии)	p<0,05 (между стадиями ретинопатии)	p<0,01

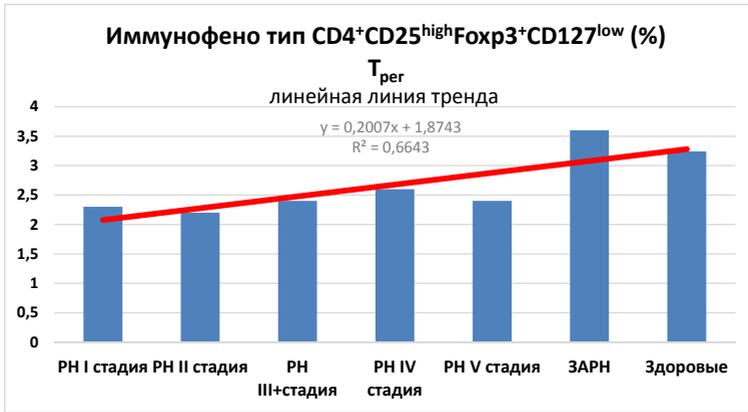
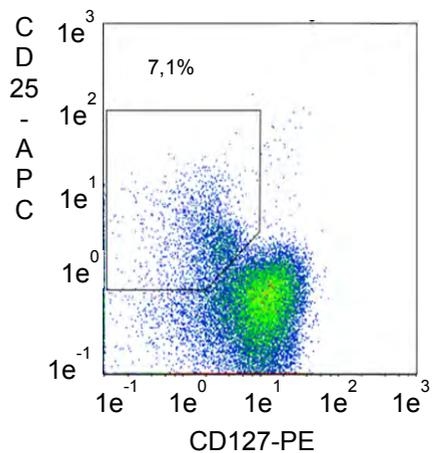
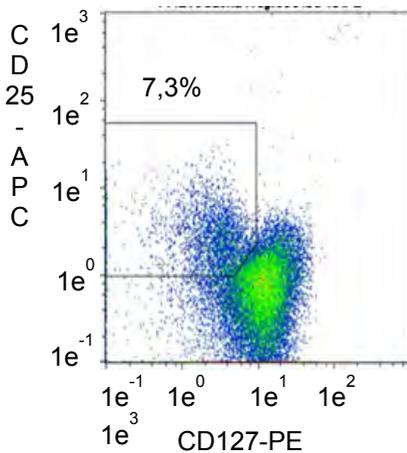


Рис. 1. Линейная линия тренда T-рег (CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low}) для всех форм РН по сравнению с контрольной группой

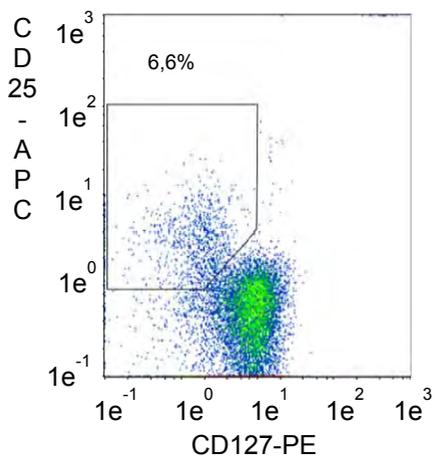
На рисунке 2 показано количество T-рег CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{low} в периферической крови здоровых доноров и пациентов с I-V стадиями РН и ЗАРН.

Здоровый донор

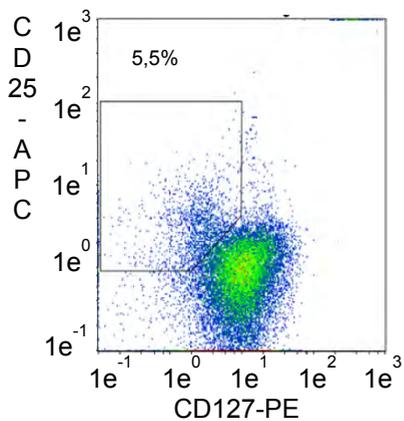
Задняя агрессивная стадия



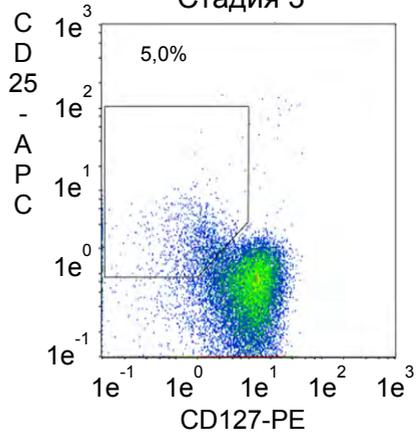
Стадия 1



Стадия 2



Стадия 3



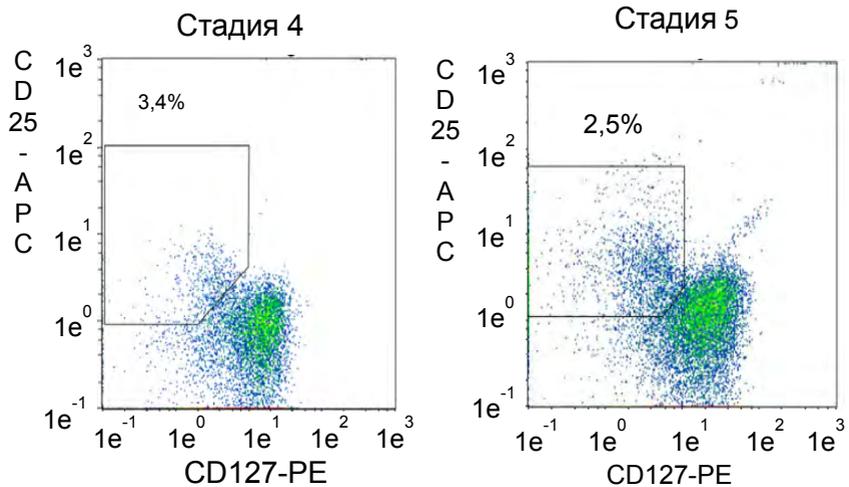
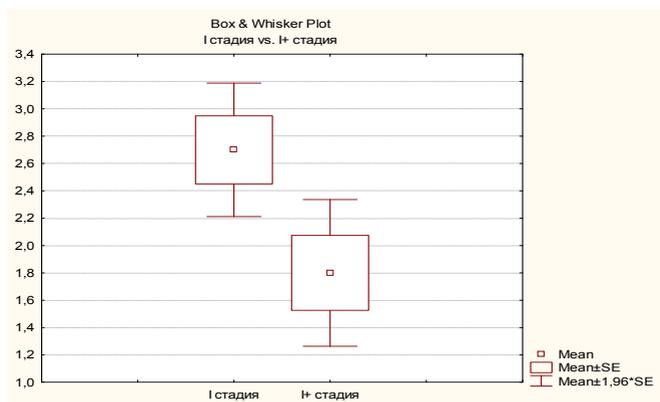


Рис. 2. Количество Т-пер CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺CD127^{high} в периферической крови здоровых доноров и пациентов с 1-V стадиями РН и ЗАРН (один репрезентативный тест)



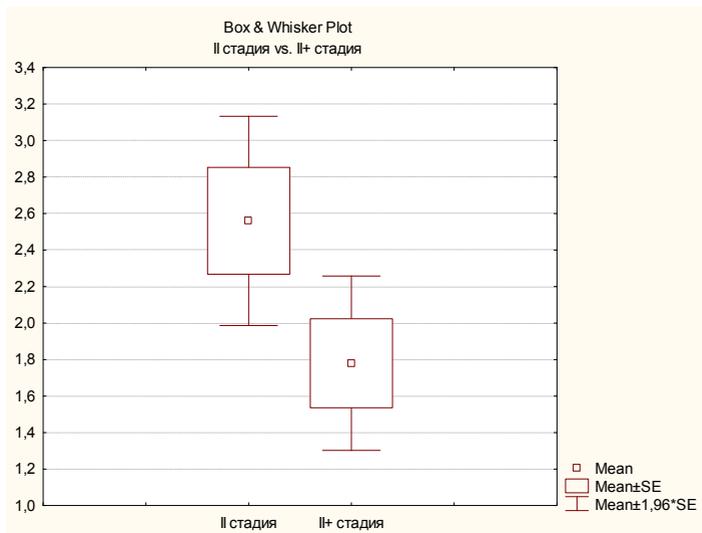


Рис.3 А, Б. Количество Т-регуляторов с начальными (I и II) стадиями ретинопатии недоношенных (кубич. диаграммы)

Как показано на рисунках 3 А, Б, при использовании критерия Стьюдента определяется пограничная достоверность при сравнении количества Т-регуляторов при сравнении непрогрессирующих и прогрессирующих I и II стадий РН ($p < 0,046$ и $p < 0,07$). На коробчатых (усиковых) диаграммах представлены эти различия. При использовании модуля «Вероятностный калькулятор» определена достоверная разница между этими значениями ($p = 0,02$ и $p = 0,03$).

На рисунке 4 представлены результаты исследования уровней VEGF F в крови у детей с РН и катарактой.



Рис.4. Уровни экспрессии гена VEGF А у детей с активной ретинопатией недоношенных и катарактой (3, 1, 2, 15, 18, 22, 33) ($p < 0,01$).

Как показано на рисунке 4, высокие уровни экспрессии гена VEGF A в крови детей с РН значительно превышают уровни этого фактора роста у больных детей с катарактой ($p < 0,01$).

Образцы плазмы крови детей с РН, а также плазмы детей, больных катарактой, по-разному влияют на характер инверсионных вольтамперограмм тест-системы (Рис.5).

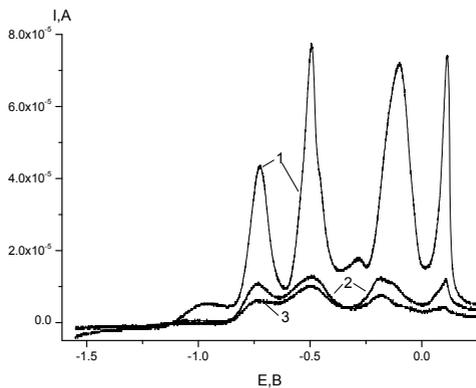


Рис.5. Вид вольтамперограмм. 1- тест-система, 2- влияние на тест-систему плазмы крови детей с ретинопатией, 3- влияние на тест-систему плазмы крови детей с катарактой.

Из кривых видно, что образцы плазмы крови новорожденных детей больных катарактой и ретинопатией недоношенных по-разному влияют на характер инверсионных вольтамперограмм.

Вид вольтамперограмм жидкости передней камеры глаза и стекловидного тела детей с РН т катарактой представлены на рисунках 6 и 7.

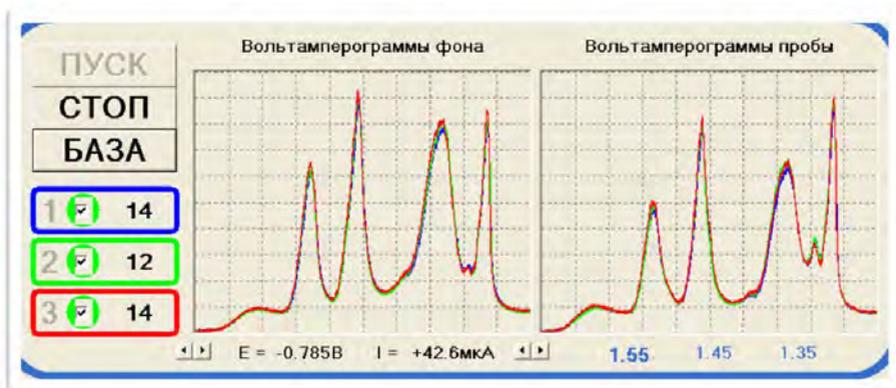


Рис.6. Вид вольтамперограмм слева – тест-система, справа – влияние жидкости передней камеры пациента на тест-систему.



Рис.7. Вид вольтамперограмм слева – тест-система, справа – влияние стекловидного тела пациента на тест-систему.

Вольтамперограмма – зависимость тока от потенциала рабочего электрода, меняющегося по линейному закону во времени. Пики соответствуют окислению металлов тест-системы. Цифровые значения (453 точки) поступают в программу для последующей обработки в виде файла, из которого извлекаются значения тока. Вольтамперограмма разбивается на N участков, количество которых зависит от сложности исследуемой системы. Таким образом формируется N -мерный образ высотой пиков токаобъекта.

Как очевидно, вольтамперограммы значительно различаются при исследовании богатой белками плазмы крови (пики токов несколько ниже, чем при исследовании сыворотки крови), жидкости передней камеры и стекловидного тела по высоте пиков тока (соответствующих, вероятно, образованию комплексов с ионами различных металлов).

Заключение. Показана принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного анализа, основанного на методе инверсионной вольтамперометрии в формате “Электронный нос”, и выявлены различия при исследовании плазмы крови, жидкости передней камеры и стекловидного тела в целях медицинского скрининга офтальмопатологии. Вольтамперограммы сыворотки крови и слезной жидкости также существенно отличаются друг от друга, но эти жидкости не исследовались у детей до года.

Выводы. 1. У больных с ретинопатией недоношенных обнаружено достоверное уменьшение количества Т-регуляторных клеток $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^{low}$. При прогрессирующих стадиях РН определяются, как правило, более низкие значения, чем при стационарных. Данные изменения могут свидетельствовать о роли аутоиммунных реакций в патогенезе ретинопатии недоношенных.

2. Задняя агрессивная ретинопатия недоношенных чаще протекает на фоне показателей клеточного иммунитета, несколько повышенных или мало отличающихся от нормальных в отличие от остальных стадий ретинопатии ($p<0,05$). Это «другая форма» ретинопатии недоношенных, причину которой нужно искать в том числе в генетических нарушениях.

3. Выявлено, что высокие уровни экспрессии гена VEGF A в крови детей с РН значительно превышают уровни этого фактора роста у больных детей с катарактой ($p<0,01$).

4. Показана принципиальная возможность применения электрохимического мультисенсорного устройства «Электронный язык», основанного на использовании метода инверсионной вольтамперометрии, в целях медицинской диагностики. Вольтамперограммы плазмы крови, жидкости передней камеры и стекловидного тела существенно различаются.

Литература.

1. I.I. Kolesnichenko, L.M. Balachova, E.P. Kantarzhii. Express Screening of Biological Objects Using Multisensor Stripping Voltamperometry with Pattern Recognition. // American Journal of Analytical Chemistry, 2016, 7, 588-596.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МОЛНИЕОСНОЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Шарипова А.У., СауKENOVA Д.М., Смагулова С.А.

Казахский НИИ глазных болезней

Аннотация.

Проблема ретинопатии недоношенных (РН) стала приобретать характер эпидемии слепоты начиная с 2008 по 2010 гг. Совершенствование методов выхаживания, развитие реанимационной службы и интенсивной терапии в неонатальной медицине привело к значительному увеличению выживаемости недоношенных детей, особенно с экстремально низкой массой тела, составляющих более 4000 в стране ежегодно. По результатам исследований Казахского НИИ глазных болезней, частота задней агрессивной ретинопатии недоношенных за 2011 год составила 6,06 % и увеличилась к 2022 году до 26 %.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, агрессивная ретинопатия, рН, рО₂, рСО₂, лактат, ВЕ, срок гестации, искусственная вентиляция легких.

Актуальность. С 2008 года Республика Казахстан перешла на международные критерии живорождения ВОЗ. Проблема ретинопатии недоношенных (РН) стала приобретать характер эпидемии слепоты начиная с 2008 по 2010 гг. Совершенствование методов выхаживания, развитие реанимационной службы и интенсивной терапии в неонатальной медицине привело к значительному увеличению выживаемости недоношенных детей, особенно с экстремально низкой массой тела, составляющих более 4000 в стране ежегодно.

Ежегодно в мире рождается 15 миллионов недоношенных новорожденных, что составляет 8-10% от общего числа родов. По данным ВОЗ, 50 000 детей во всем мире ежегодно становятся слепыми вследствие ретинопатии недоношенных. Ретинопатия недоношенных является главной причиной слепоты и слабовидения недоношенных детей и занимает первое место в структуре инвалидности по зрению в экономически развитых странах.

Согласно новой Международной классификации, наиболее опасной и трудно поддающейся лечению является агрессивная ретинопатия недоношенных. Данная форма заболевания характеризуется молниеносным течением, резким расширением и извитостью сосудов сетчатки во всех квадрантах глазного дна, локализацией процесса преимущественно в центральных отделах сетчатки и отсутствием стадийности процесса [2]. Как правило, агрессивная ретинопатия недоношенных выявляется в группе глубоко недоношенных новорожденных с тяжелым соматическим состоянием [3].

По результатам исследований Казахского НИИ глазных болезней, частота задней агрессивной ретинопатии недоношенных за 2011 год составила 6,06 % и увеличилась к 2022 году до 26 %.

Сложность представляют диагностика и определение показаний к лечению агрессивной ретинопатии недоношенных. Диагностика заболевания базируется, главным образом, на инструментальных методах исследования (бинокулярная офтальмоскопия и цифровое фотографирование глазного дна). Определение изменений на клеточном уровне, характерных для агрессивной ретинопатии недоношенных, которые, как правило, предшествуют функциональным отклонениям, не возможно.

Установлена прямая корреляционная связь тромбоцитопении с ретинопатией недоношенных типом 1, в первой зоне [11]. Однако в литературе отсутствуют данные о кислотно-щелочном составе и показателях общей антиоксидантной активности у новорожденных с агрессивной ретинопатией недоношенных.

Учитывая вышеизложенное, перспективным является исследование метаболических нарушений у новорожденных при агрессивной ретинопатии недоношенных.

Методы клинИко-инструментальных исследований больных

1. Лабораторные методы:

Лабораторные методы исследования включали в себя определение в капиллярной крови на аппарате ABL 800 Flex показателей рН, парциального давления газов (рО₂, рСО₂), метаболитов (Лас), дефицита или избытка оснований (ВЕ) на протяжении всего периода пребывания на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и проведения оксигенотерапии.

Определяли минимальные и максимальные уровни газов крови и диапазон их колебаний. Всего проведено 270 измерений (19 недоношенным новорожденным).

Клиническое исследование

Офтальмологическое обследование новорожденных недоношенных проводилось в 29-32 неделе ПКВ в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, палатах интенсивной терапии отделения патологии новорожденных. Сроки проведения осмотра, в первую очередь, определялись с учетом соматического состояния ребенка. Частота осмотров зависела от исходного состояния сетчатки и выявленных признаков РН.

Бинокулярную офтальмоскопию проводили по общепринятой методике.

Цифровое фоторафирование глазного дна ретиальной педиатрической системы «RetCam 130».

Оценка состояния сетчатки проводилась на основании Международной классификации РН (2021 г) где отдельно рассматриваются агрессивная ретинопатия недоношенных.

Методы статистической обработки

Описательная статистика для изучаемых показателей КОС, среди недоношенных новорожденных проводилась в группе детей с задней агрессивной ретинопатией недоношенных (критерии включения) и ретинопатией недоношенных II-III пороговой стадии (критерии исключения). Проводились сравнение показателей КОС, полученных в ходе исследования со значениями нормы, среди обеих групп. Вычисления производились в программе IBM SPSS Statistics. Критерии применялись с учетом распределения данных.

Результаты и обсуждения

2. Результаты показателей КОС

Проведен анализ данных показателей кислотно-основного состава крови 11 недоношенным новорожденным с задней агрессивной формой ретинопатии и 8 недоношенных новорожденных с пороговой ретинопатией II-III стадии.

При сравнении показателей КОС (рН, рО₂, рСО₂) в группе с агрессивной ретинопатией недоношенных и пороговой ретинопатией II-III стадии полученных в ходе исследования со значениями нормы отмечались значимые нарушения.

При сравнительной оценке показателей КОС между группами установлено, что в группе новорожденных с пороговой РН преобладали средние значения компенсированного метаболического и/или респираторного ацидоза – рН 7,37, рСО₂ 35 мм рт.ст., ВЕ -5,28 ммоль/л, у новорожденных с А-РН по средним величинам в плазме крови отмечался декомпенсированный респираторный алкалоз – рН 7,48, рСО₂ 37,6 мм рт.ст., ВЕ -4,98 ммоль/л.

У новорожденных с А-РН отмечалась гипероксия, среднее значение рО₂ группы составило 64,9 мм рт.ст., у новорожденных с пороговой ретинопатией II-III стадии преобладала нормоксия – среднее значение рО₂ составило 53,9 мм рт.ст. ($p \leq 0.001$). Колебания показателей рО₂ в группе с пороговой РН не отмечались, лишь однократно показатель рО₂ повысился до 196 мм рт.ст. У новорожденных с А-РН были отмечены самые высокие показатели рО₂ 218 мм рт.ст. и самые низкие показатели рО₂ 32,1 мм рт.ст. в период проведения респираторной поддержки. Соответственно, и диапазон колебаний уровня парциального напряжения кислорода в крови таких недоношенных новорожденных был наиболее высоким. У новорожденных с А-РН он, в среднем, составил 185,9 мм рт.ст., у новорожденных с пороговой РН – 49,5 мм рт.ст. ($p = 0.050$).

Средние значения показателей рСО₂ у новорожденных с А-РН составили 37,6 мм рт.ст., у новорожденных с ретинопатией II стадии – 35 мм рт.ст. Выявлены достоверные различия в показателях рСО₂ ($t = 2.028$, $df = 47$, $p = 0.048$). У новорожденных с А-РН были отмечены самые высокие показатели рСО₂ 85 мм рт.ст. и самые низкие показатели рСО₂ 11,4 мм рт.ст. в период проведения респираторной поддержки. В отношении колебаний значений наблюдалась схожая с рО₂ картина: диапазон колебаний парциального давления углекислого газа в первой группе составил 73,6 мм рт.ст. и был наиболее высоким, чем в группе в пороговой ретинопатией недоношенных, где рСО₂ составил 43,4 мм рт.ст.

Показатели лактата, отражающего уровень тканевой гипоксии, имели существенную разницу в группе детей с А-РН. У каждого ребенка отмечались значительные колебания лактата в крови и составили от 1,1 до 8,8 ммоль/л в среднем $2,6 \pm 1,9$ ммоль/л. При сравнении показателей лактата внутри группы между детьми с А-РН по данным дисперсионного анализа определены высоко достоверные различия в показателях лактат ($F_5 = 15.645$, $p \leq 0.001$). Однако при сравнении показателей лактата у детей с пороговой РН при дисперсионном анализе существенных различий в показателях лактат ($F_5 = 0.297$, $p = 0.909$) не выявлено, равно как и в группе с пороговой РН между детьми существенных различий не выявлено ($F_5 = 0.297$, $p = 0.909$).

Таким образом, можно предполагать, что полученные данные свидетельствуют о важной роли увеличения содержания лактата в развитии А-РН.

2.1 Результаты офтальмологического исследования

Агрессивная ретинопатия недоношенных была обнаружена на 22 глазах у 11 младенцев при первом офтальмологическом исследовании.

При офтальмологическом осмотре детей с пороговой ретинопатией недоношенных II-III стадией, мониторинг осуществлялся до тех пор, пока не потребовалось лазерное лечение. Количество и частота офтальмологических осмотров зависели от состояния глазного дна - наличия незрелой васкуляризации сетчатки или признаков ретинопатии недоношенных различной степени тяжести.

Заключение

В результате проводимых исследований была отмечена четкая связь между развитием задней агрессивной формой ретинопатии у недоношенных детей и высокими концентрациями дополнительного кислорода, а также колебаниями значений газов крови. Во время проведения респираторной поддержки в крови недоношенных новорожденных зафиксированы существенные разницы уровней парциального напряжения кислорода и углекислого газа. Для детей с А-РН, в периоде новорожденности, более характерным является состояние респираторного алкалоза и гипероксии, что указывает на ведущую роль в формировании болезни. Так как задняя агрессивная ретинопатия недоношенных является неотъемлемой составной частью симптомокомплекса недоношенности, то степень патологических изменений на глазном дне у недоношенного ребенка прямо пропорциональна тяжести его соматического состояния.

Выводы

1. Установлена четкая связь между развитием задней агрессивной ретинопатией недоношенных и колебаниями значений газов крови (рO₂) и (рCO₂) $p \leq 0,001$.
2. Для новорожденных с А-РН в период новорожденности характерно состояние респираторного алкалоза и гипероксии.
3. Показатели лактата в крови у детей с А-РН имеют значительные колебания, по данным дисперсионного анализа определены высоко достоверные различия в показателях лактат ($p \leq 0.001$).

Список литературы

1. Сайдашева Э.И. Совершенствование офтальмологической помощи новорожденным детям в условиях мегаполиса: Автореф. дис. ... док. мед. наук. – Санкт - Петербург, 2010. – 37 с.
2. The International Classification of Retinopathy of Prematurity Revisited // An International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity // Arch Ophthalmol. - 2005. – Vol.123. – № 7. – P. 991-999.
3. International Classification of Retinopathy of Prematurity, Third Edition// Arch Ophtha.- 2021
4. Терещенко А.В., Белый Ю.А., Терещенкова М.С., Володин П.П. Особенности диагностики и лечения задней агрессивной ретинопатии недоношенных // Офтальмохирургия. – 2010. – № 1. – С.29-34.
4. Асташева И.Б., Аксенова И.И., Кузнецова Ю.Д., Ежова Н.Ю., Павлюк Е.Ю., Безенина Е.В. Определение показаний к оперативному вмешательству при различных формах ретинопатии недоношенных // Российская педиатрическая офтальмология. — 2007. — № 4. — С. 28-30.
5. Кулакова М.В. Лазеркоагуляция сетчатки в лечении ретинопатии недоношенных с различными вариантами течения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2007. – 24 с.
6. Терещенкова М.С. Тактика лазерного лечения ранних проявлений задней агрессивной ретинопатии недоношенных с использованием транспупиллярной контактной лазерной коагуляции сетчатки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2010. – 24 с.
7. Drener K.A., Trese M.T., Capone A. Jr. Aggressive Posterior Retinopathy of Prematurity // Retina. – 2010. – Suppl. 30. – № 4. – S. 37–40.
8. Suk K.K, Berrocal A.M, Murray T.G, Rich R, Major J.C, Hess D, Jonson RA. Retinal detachment despite aggressive management of aggressive posterior retinopathy of prematurity. // J Prdiatr Ophthamol Strabismus. – 2010. – Dec 22;47 Online: 1-4. doi: 10.3928/01913913-20101217-06.
9. Асташева И.Б. Задняя агрессивная ретинопатия недоношенных // Материалы научной конференции офтальмологов: Невские горизонты - 2012. – СПб., 2012. - С.139-142.

10. Трифаненкова И.Г. Ранняя диагностика и мониторинг ретинопатии недоношенных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2008. – 24 с.

11. Jensen AK, Ying GS, Huang J, Karp K, Quinn GE, Binenbaum G. Thrombocytopenia and retinopathy of prematurity // J AAPOS. 2011. - Feb 1;15(1):e3-e4.

ВЗАИМОВЛИЯНИЕ БИОМАРКЕРОВ ОКТ И ОКТА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

Юсеф Н.Ю.¹, Дуржинская М.Х.¹, Павлов В.Г.¹, Петрачков Д.В.¹, Гуревич И.Б.², Яшина В.В.², Тлеубаев А.Т.², Фадеев В.В.³, Полубоярнинова И.В.³, Гольдшмид А.Е.³, Карамуллина Р.А.³, Липатов Д.В.⁴, Будзинская М.В.¹.

¹Научно-исследовательский институт глазных болезней им. М.М. Краснова, Москва, Россия.

²Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской Академии Наук, Москва, Россия.

³Университетская клиническая больница №2, Первый МГМУ им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет) Москва, Россия.

⁴Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия.

Аннотация

Обоснование. В данной работе проводилась оценка взаимосвязи ОКТ и ОКТА биомаркеров у пациентов с СД 1 типа без ДР и с ДР различных стадий с применением автоматизированного анализа изображений ОКТА макулярной области.

Цель. Выявить взаимосвязь между параметрами ОКТ и ОКТА у пациентов с СД 1 типа без ДР и с ДР различных стадий с применением автоматизированного анализа изображений ОКТА.

Материалы и методы. Исследование проведено на выборке из 187 пациентов (365 глаз) с СД1 типа без ДР и с сопутствующей ДР на разных стадиях в равных пропорциях. ОКТ проводилась на приборе Topcon 3DOCT-2000FA (Япония). С помощью ОКТ проводилась оценка ряда количественных и качественных параметров. ОКТА проводилась на приборе Spectralis HRA + OCT модулем ОКТА «Heidelberg Engineering» (Германия). К ОКТ-ангиограммам поверхностного и глубокого микрососудистых сплетений сетчатки был применен автоматизированный анализ с помощью специально разработанного программного обеспечения, что позволило получить количественные параметры микрососудистого русла сетчатки. С целью анализа корреляций между исследуемыми структурными параметрами использовался коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. В результате статистического анализа была обнаружена достоверная ($p \leq 0,05$) обратная корреляционная связь между ЦТС и площадью ФАЗ в SCP и DCP ($K_k = -0,739$, $p = 0$; $K_k = -0,593$, $p = 0$); ГРТ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = -0,541$, $p = 0,01$; $K_k = -0,539$, $p = 0,01$) и DCP ($K_k = -0,536$ и $K_k = -0,558$ соответственно, $p = 0$); D_EZ и VAD, а также VSD в DCP ($K_k = -0,557$, $p = 0$ и $K_k = -0,564$, $p = 0$). Достоверная ($p \leq 0,05$) прямая корреляционная связь была выявлена между: GCL++ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = 0,563$, $p = 0$; $K_k = 0,548$, $p = 0$); GCL+ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = 0,610$, $p = 0$; $K_k = 0,587$, $p = 0$); ГРТ и VDI в SCP и DCP ($K_k = 0,504$, $p = 0$; $K_k = 0,627$, $p = 0$); ГРТ и VCI в SCP и DCP ($K_k = 0,509$, $p = 0$; $K_k = 0,509$, $p = 0,04$); D_EZ VDI в SCP и DCP ($K_k = 0,502$, $p = 0$; $K_k = 0,579$, $p = 0$) и VCI в DCP ($K_k = 0,506$, $p = 0$).

Заключение. В результате проведенного исследования на выборке пациентов с СД 1 типа было выявлено наличие закономерностей между патологическими изменениями внутренних и наружных слоев сетчатки по данным ОКТ и ишемическими изменениями по данным ОКТА.

Ключевые слова: биомаркеры; сахарный диабет; диабетическая ретинопатия; анализ изображений; ОКТ-ангиография; микрососудистое русло сетчатки, нейродегенеративные изменения сетчатки.

Correlation between OCT and OCTA biomarkers in diabetic retinopathy inpatients with Type 1 Diabetes Mellitus.

Yusef N. Yusef, Madina H. Durzhinskaya¹, Vladislav G. Pavlov¹, Denis V. Petrachkov¹, Igor B. Gurevich², Vera V. Yashina², Adil T. Tleubaev², Valentin V. Fadeyev³, Irina V. Poluboyarinova³, Anna E. Goldsmid³, Regina A. Karamullina³, Dmitriy V. Lipatov⁴, Maria V. Budzinskaya¹.

¹M.M. Krasnov Research institute of eye diseases, Moscow, Russia

Introduction. In this work, we assessed the relationship between OCT and OCTA biomarkers in patients with type 1 DM without and with DR at different stages using software that provide automated analysis of OCTA images.

Aim. To investigate the correlation between OCT and OCTA parameters in patients with type 1 DM without DR and with DR at different stages using software that provide automated analysis of OCTA images.

Methods. The study was conducted on a sample of 187 patients (365 eyes) with type 1 DM without DR and with concomitant DR at different stages in equal proportions. OCT was performed on a Topcon 3D OCT-2000FA device (Japan). OCT was used to evaluate a number of quantitative and qualitative parameters. OCTA was performed on a Spectralis HRA+OCT device with an OCTA module, Heidelberg Engineering (Germany). Automated analysis of OCT angiograms was conducted using original software, which made it possible to obtain quantitative parameters of retinal microvascular bed. The Spearman correlation was applied to this study to understand the interaction between two variables.

Results. As a result of statistical analysis, a significant ($p \leq 0.05$) inverse correlation was found between the CRT and the FAZ area in SCP and DCP (Kk = -0.739, $p = 0$; Kk = -0.593, $p = 0$); HRD and VAD, as well as VSD in SCP (Kk = -0.541, $p = 0.01$; Kk = -0.539, $p = 0.01$) and DCP (Kk = -0.536 and Kk = -0.558, respectively, $p = 0$); D_EZ and VAD, as well as VSD in DCP (Kk = -0.557, $p = 0$ and Kk = -0.564, $p = 0$). A significant ($p \leq 0.05$) direct correlation was found between: GCL++ and VAD, as well as VSD in SCP (Kk = 0.563, $p = 0$; Kk = 0.548, $p = 0$); GCL+ and VAD, as well as VSD in SCP (Kk = 0.610, $p = 0$; Kk = 0.587, $p = 0$); HRD and VDI in SCP and DCP (Kk = 0.504, $p = 0$; Kk = 0.627, $p = 0$); GRT and VCI in SCP and DCP (Kk = 0.509, $p = 0$; Kk = 0.509, $p = 0.04$); D_EZ VDI in SCP and DCP (Kk = 0.502, $p = 0.0$; Kk = 0.579, $p = 0$) and VCI in DCP (Kk = 0.506, $p = 0$).

Conclusion. As a result of the study on a sample of patients with type 1 DM, the presence of correlation between pathological changes in the inner and outer layers of the retina according to OCT data and ischemic changes according to OCTA was revealed.

Keywords: biomarkers; diabetes mellitus; diabetic retinopathy; image analysis; OCT angiography; retinal microvasculature, retinal neurodegeneration.

Актуальность

Диабетическая ретинопатия (ДР) характеризуется структурными и функциональными изменениями микроциркуляторного русла сетчатки, приводящими к окклюзии капилляров, увеличению проницаемости сосудов и развитию ретиальной неоваскуляризации. Кроме того, ДР является также и нейродегенеративным заболеванием. Актуальной научной проблемой в настоящее время является изучение потенциальной связи между нейродегенерацией и микрососудистыми нарушениями [1]. В связи с эволюцией методов визуализации глазного дна, все более актуальным становится поиск новых клинических, лабораторных и визуализируемых биомаркеров, а также изучение их влияния на прогрессирование заболевания и ответ на терапию. Понятие «биомаркер» характеризуется как «параметр, который подлежит объективному измерению и оценивается как индикатор нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических реакций на терапевтическое вмешательство» [2].

В результате гистологических исследований сетчатки доноров с сахарным диабетом (СД) и на экспериментальных моделях ДР были выявлены признаки нейроглиальной дегенерации, предшествовавшей микроангиопатии: реактивный глиоз, дисфункция нейронов сетчатки и апоптоз нервных клеток. Ганглиозные клетки сетчатки (ГКС) и амакриновые клетки наиболее подвержены апоптозу при СД, который выявляется на оптической когерентной томографии (ОКТ) в виде снижения толщины внутренних слоев сетчатки. Подобные изменения были также отмечены у пациентов с СД без признаков ДР [3]. Растущее количество наблюдений свидетельствует о том, что нейрональная дегенерация является ранним событием в патогенезе ДР, которое может быть связано с развитием микрососудистых аномалий [4]. Изучение основных механизмов,

ведущих к ранним нейродегенеративным и микрососудистым нарушениям у пациентов с СД имеет важное значение для разработки новых терапевтических стратегий [5].

Микрососудистое русло сетчатки оценивается *invivo* с помощью оптической когерентной томографии-ангиографии (ОКТА), а структурные параметры дифференцируются с помощью ОКТ. Данные исследований, посвященные изучению взаимосвязи параметров ОКТ и ОКТА при ДР свидетельствуют об усугублении поражения микрососудистого сплетения сетчатки, а также внутренних слоев сетчатки с увеличением стадии ДР. К примеру, более выраженное патологическое расширение ФАЗ было отмечено в глазах с DRIL по сравнению с глазами без DRIL [6]. Также было выявлено, что параметр плотности микрососудистого сплетения сетчатки (VAD) положительно коррелирует с толщиной слоя ГКС и внутреннего плексиформного слоя (ВПС) [7]. В исследовании Kim T.J. и соавторов была обнаружена прямая связь между протяженностью поражения эллипсоидной зоны (EZ) у пациентов с ДР и размерами фовеолярной аваскулярной зоны (ФАЗ), а также обратная связь с VAD на уровне поверхностного капиллярного сплетения парафовеолярно и на уровне глубокого капиллярного сплетения в области фовеа [8].

Тем не менее, существующие в научной литературе данные весьма ограничены, для более объективной оценки приведенных закономерностей необходимо расширение выборки пациентов и пространства признаков. В нашем исследовании изучалась взаимосвязь между параметрами микроциркуляторного русла сетчатки, полученными при помощи автоматизированного анализа ОКТ-ангиограмм пациентов с ДР различных степеней тяжести без ДМО и структурными параметрами ОКТ, являющимися биомаркерами нейродегенеративных изменений сетчатки.

Цель исследования

Выявить взаимосвязь между параметрами ОКТ и ОКТА у пациентов с СД 1 типа без ДР и с ДР различных стадий с применением автоматизированного анализа изображений ОКТА.

Материалы и методы

Исследование проведено на выборке из 187 пациентов (365 глаз) с СД1 типа без ДР и с сопутствующей ДР на разных стадиях в равных пропорциях. Из исследования были исключены пациенты с помутнением оптических сред, неконтролируемой глаукомой, наличием ДМО и других видов патологии макулярной области.

ОКТ проводилась на приборе Topcon 3DOCT-2000FA (Япония). С целью количественной оценки толщины слоев комплекса ганглиозных клеток оценивались следующие ОКТ-биомаркеры: центральная толщина сетчатки (ЦТС), суммарная толщина слоя нервных волокон сетчатки (RNFL TT), суммарная толщина слоя комплекса ганглиозных клеток сетчатки (GCL++ TT), суммарная толщина слоя ганглиозных клеток сетчатки и внутреннего плексиформного слоя (GCL+ TT). Качественная оценка снимков проводилась по следующим критериям: наличие гиперрефлективных точек (ГРТ), дезорганизации внутренних слоев сетчатки (DRIL), наружного плексиформного слоя (OPL), наружной пограничной мембраны (ELM) и EZ.

ОКТА проводилась на приборе Spectralis HRA + OCT с модулем ОКТА «Heidelberg Engineering» (Германия). К ОКТ-ангиограммам поверхностного и глубокого микрососудистых сплетений сетчатки был применен автоматизированный анализ с помощью специально разработанного программного обеспечения. В результате анализа был получен ряд количественных параметров микрососудистого сплетения сетчатки: размер ФАЗ, плотность микрососудистого русла (VAD), скелетонизированная площадь сосудистого русла (VSD), а также индекс диаметра (VDI) и извитости (VCI) сосудов. Для обработки изображений ОКТА применялся следующий алгоритм: к полученным с прибора изображениям применялась бинаризация, на основе бинаризованного изображения были получены изображения скелета сосудов и периметра сосудов. Далее было проведено вычисление признаков, основанных на площади ФАЗ и зон ишемии, который сводится к поиску крупных по площади областей «черных» пикселей на бинаризованном изображении. Также с помощью программного обеспечения был использован пятиндексный количественный анализ для обнаружения и оценки сосудистых аномалий. Таким образом, было разработано пространство признаков, на основании которого проводилась идентификация патологических изменений в структуре сосудистых сплетений сетчатки. Статистическая обработка материала производилась

с помощью программы IBM SPSS Statistics 26.0. С целью анализа корреляций между исследуемыми структурными параметрами использовался коэффициент корреляции Спирмена. Статистически значимым считалось двустороннее значение $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

С целью изучения взаимосвязи между ОКТ и ОКТ-А биомаркерами при ДР сбывл проведен корреляционный анализ (Табл. 1).

Таблица 1. Корреляционный анализ параметров ОКТ и ОКТ-А.											
		ФАЗ SCP	ФАЗ DCP	VAD SCP	VSD SCP	VDI SCP	VCI SCP	VAD DCP	VSD DCP	VDI DCP	VCI DCP
ЦТС	Кк	-0,739**	-0,593**	0,276**	0,257**	-0,130*	-0,069	0,097	0,086	-0,053	0,060
RNFL TT	Кк	-0,091	-0,090	0,162**	0,152**	-0,125*	-0,103*	0,050	0,036	0,011	-0,011
GCL++ TT	Кк	-0,202**	-0,053	0,563**	0,548**	-0,254**	-0,175**	0,053	0,049	-0,033	0,083
GCL+ TT	Кк	-0,206**	-0,131*	0,610**	0,587**	-0,246**	-0,198**	0,174**	0,165**	-0,127*	0,019
ГРТ	Кк	0,186**	0,152**	-0,541**	-0,539**	0,504**	0,509**	-0,536**	-0,558**	0,627**	0,509*
DRIL	Кк	0,073	0,183**	-0,138**	-0,144**	0,186**	0,044	-0,223**	-0,225**	0,219**	0,183**
D_OPL	Кк	0,019	0,201**	-0,110*	-0,107*	0,092	0,105*	-0,274**	-0,275**	0,271**	0,092
D_ELM	Кк	0,058	0,170**	-0,126*	-0,109*	-0,039	0,056	-0,160**	-0,159**	0,133*	0,113*
D_EZ	Кк	0,192**	0,261**	-0,234**	-0,222**	0,502**	0,051	-0,557**	-0,564**	0,579**	0,506**

** - Корреляция значима на уровне 0,01; * - Корреляция значима на уровне 0,05; Кк – Коэффициент корреляции; ЦТС - центральная толщина сетчатки; RNFL TT - слой нервных волокон сетчатки; GCL+ - слой ГКС и ВПС; GCL++ - включает RNFL TT и GCL+; ГРТ – гиперрефлективные точки; DRIL - дезорганизация внутренних слоев сетчатки; D_OPL - дезорганизация наружного плексиформного слоя; D_ELM - дезорганизация наружной пограничной мембраны; D_EZ - дезорганизация эллипсоидальной зоны.

В результате статистического анализа была обнаружена статистически достоверная корреляционная связь ($p \leq 0,05$) среди ряда ОКТ и ОКТА биомаркеров. Обратная корреляционная связь была выявлена между ЦТС и площадью ФАЗ в SCP и DCP ($K_k = -0,739, p = 0$; $K_k = -0,593, p = 0$); ГРТ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = -0,541, p = 0,01$; $K_k = -0,539, p = 0,01$) и DCP ($K_k = -0,536$ и $K_k = -0,558$ соответственно, $p = 0$); D_EZ и VAD, а также VSD в DCP ($K_k = -0,557, p = 0$ и $K_k = -0,564, p = 0$). Прямая корреляционная связь была выявлена между GCL++ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = 0,563, p = 0$; $K_k = 0,548, p = 0$); GCL+ и VAD, а также VSD в SCP ($K_k = 0,610, p = 0$; $K_k = 0,587, p = 0$); ГРТ и VDI в SCP и DCP ($K_k = 0,504, p = 0$; $K_k = 0,627, p = 0$); ГРТ и VCI в SCP и DCP ($K_k = 0,509, p = 0$; $K_k = 0,509, p = 0,04$); D_EZ VDI в SCP и DCP ($K_k = 0,502, p = 0$; $K_k = 0,579, p = 0$) и VCI в DCP ($K_k = 0,506, p = 0$).

Выводы

В результате проведенного исследования на выборке пациентов с СД I типа было выявлено наличие закономерностей между патологическими изменениями внутренних и наружных слоев сетчатки по данным ОКТ и ишемическими изменениями по данным ОКТА. Изученные взаимосвязи между биомаркерами ОКТ и ОКТА отражают патогенетические процессы, лежащие в основе ДР, а также имеют диагностическую информативность в прогнозировании динамики зрительных функций. Необходимы дальнейшие исследования в данном направлении с расширением спектра изучаемых признаков и сопоставления их с системными факторами течения СД с целью повышения эффективности диагностики ДР.

Список литературы

1. Xiaoli Li, Jie Xie, Liang Zhang, Ying Cui, Guanrong Zhang, Xiangting Chen, Jun Wang, Aiping Zhang, Tian Huang, Qianli Meng; Identifying Microvascular and Neural Parameters Related to the Severity of Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2020;61(5):39. doi: <https://doi.org/10.1167/iovs.61.5.39>.
2. Hafner, J., Karst, S., Schmidt-Erfurth, U. Potential Imaging Biomarkers in the Development and Progression of Diabetic Retinopathy. *Early Events in Diabetic Retinopathy and Intervention Strategies.* 2018;2 9-36. doi:10.5772/intechopen.71747.
3. Tang, F., Ng, D.S., Lam, A. et al. Determinants of Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography Metrics in Patients with Diabetes. *Sci Rep* 7, 2575 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02767-0>. [Catalani E, Cervia D. Diabetic retinopathy: a matter of retinal ganglion cell homeostasis. *Neural Regen Res.* 2020 Jul;15(7):1253-1254. doi: 10.4103/1673-5374.272577. PMID: 3196808; PMCID: PMC7047784.
4. Abcouwer SF, Gardner TW. Diabetic retinopathy: loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1311:174-190. doi: 10.1111/nyas.12412.
5. Simó R, Hernández C. Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25:23-33. doi: 10.1016/j.tem.2013.09.005.
6. Moein, H-R, Novais, EA, Rebhun, CB, et al. Optical coherence tomography angiography to detect macular capillary ischemia in patients with inner retinal changes after resolved diabetic macular edema. *Retina* 2018; 38: 2277-2284. doi: 10.1097/IAE.0000000000001902.
7. Tey, K.Y., Teo, K., Tan, A.C.S. et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications. *Eye and Vis* 6, 37 (2019). <https://doi.org/10.1186/s40662-019-0160-3>.
8. Kim JT, Park EJ. Correlation of photoreceptor integrity with retinal vessel density and choriocapillaris in eyes with diabetic retinopathy. *Retina.* 2022 mar 1;42(3):434-441. Doi: 10.1097/iae.0000000000003343. Pmid: 34743130.

УРОВЕНЬ СЕРОТОНИНА В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ (пилотное исследование).

Нероев В.В., Чеснокова Н.Б., Охотимская Т.Д., Павленко Т.А., Безнос О.В., Лисовская О.А., Дерюгина Н.Е.
ФГБУ «НМИЦ Глазных болезней им Гельмгольца» МЗ РФ, Москва, Россия

Резюме

Серотонин участвует в регуляции тонуса гладкой мускулатуры сосудистой стенки, в том числе сосудов глаза. Выявлена взаимосвязь между уровнем серотонина в крови и наличием развития глазных заболеваний, включая возрастную макулярную дегенерацию, катаракту, глаукому, ретинопатию недоношенных, диабетическую ретинопатию (ДР). Описано снижение уровня серотонина в водянистой влаге у пациентов в ДР, однако в доступной литературе не найдено данных об уровне серотонина в слезе у данных пациентов.

Цель работы: определение концентрации серотонина в слезной жидкости у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией.

Материалы и методы. В исследование включено 10 пациентов (20 глаз) с пролиферативной ДР, средний возраст пациентов составил 57 ± 11 лет. В группу сравнения вошли 5 здоровых добровольцев, сопоставимые по возрасту с исследуемой группой. Слезу собирали с помощью фильтровальной бумаги, концентрацию серотонина определяли методом ИФА.

Результаты. В группе здоровых добровольцев уровень серотонина в слезе составил $5,09 \pm 0,31$ нг/мл. У пациентов с пролиферативной ДР уровень серотонина оказался достоверно ниже: $4,01 \pm 0,40$ нг/мл ($p \leq 0,05$). У пациентов с пролиферативной ДР значимых различий в зависимости от возраста, пола пациентов, особенностей клинического течения ДР не выявлено.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, серотонин, слезная жидкость.

Serotonin level in lacrimal fluid in patients with diabetic retinopathy (pilot study).

Neroev V.V., Chesnokova N.B., Okhotsimskaya T.D., Pavlenko T.A., Beznos O.V., Lisovskaya O.A., Deryugina N.E.
Heimholtz Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract

Serotonin takes part in eye vasal tone regulation. Alteration of serotonin level in blood was detected in patients with different eye diseases including age macular degeneration, cataract, glaucoma, retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy (DR), etc. The decrease of serotonin concentration in aqueous humor in patients with DR was described, but we found no data about serotonin level in tears.

Purpose: estimation of serotonin concentration in tears of patients with proliferative DR.

Methods. The study was carried out on 10 patients (20 eyes) with proliferative DR, 57±11 years old, 5 healthy adults of the same age served as controls. Tear fluid was collected with filter paper, serotonin concentration was detected via immunofluorescence assay.

Results. In healthy controls serotonin concentration in tears was $5,09 \pm 0,31$ ng/ml, while in patients with DR it was significantly lower: $4,01 \pm 0,40$ ng/ml ($p \leq 0,05$). In DR patients we revealed no statistically significant difference in patients according to age, sex of patients or specificity of clinical course of DR.

Key words: diabetic retinopathy, serotonin, lacrimal fluid.

Биогенный амин серотонин (5-гидрокситриптамин) является одним из основных нейромедиаторов. Он образуется из аминокислоты L-триптофана и оказывает влияние на многие физиологические процессы в организме. Серотонин участвует в регуляции высшей нервной деятельности, моторики желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, вызывает сокращение гладкой мускулатуры бронхов, кровеносных сосудов, в том числе и сосудов глаза [1].

Действие серотонина опосредовано специфическими рецепторами. В настоящее время описано 14 типов серотониновых рецепторов [2-4]. Эффект серотонина, опосредованный различными типами рецепторов может быть

противоположным. Например, воздействие на 5-HT₂-рецепторы гладких мышц в стенках кровеносных сосудов вызывает их сужение, в то время как воздействие на 5-HT_{1A}-рецепторы обуславливает расширение сосудов и снижение артериального давления. Через 5-HT_{1A}-рецепторы серотонин блокирует симпатические нейроны ствола головного мозга и периферической нервной системы, что приводит к снижению симпатического тонуса. Активация 5-HT₁-рецепторов в эндотелии сосудов приводит к выбросу вазодилаторов простаглицина и монооксида азота [5].

Серотониновая недостаточность играет важную роль в дисфункции гладкой мускулатуры, которая может проявляться тотальными нарушениями микроциркуляции и приводит к нарушению процессов репарации, например в послеоперационном периоде [6]. Введение экзогенного серотонина нормализует энергетический обмен в клетках гладкой мускулатуры, способствуя восстановлению их автоматизма и сократительной функции независимо от уровня кислорода в тканях [7]. Большую роль играет не только собственно уровень серотонина, но и его способность к взаимодействию со специфическими рецепторами. Лекарственные средства, применяемые в послеоперационном периоде (анестетики, антибиотики), могут конкурентно связываться с серотониновыми рецепторами, усиливая дефицит серотонина. Применение серотонина в виде лекарственного средства – серотонина адипоната оказывает положительное влияние на состояние микроциркуляторного русла, усиливает моторику ЖКТ и сократительную функцию миокарда [8, 9].

Нарушение функции гладкой мускулатуры сосудов может рассматриваться как одна из причин развития гипоксии. Применение серотонина адипоната способствовало возрастанию уровня тканевого кислорода на 50% в послеоперационном периоде [10] и повышало на 40% парциальное напряжение кислорода в артериальной крови у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких [11]. Сочетанное применение серотонина и мексикора способствовало не только нормализации микроциркуляции у пациентов с критической ишемией нижних конечностей, но и нормализации цитокинового статуса, снижению интенсивности перекисного окисления липидов и воспалительной реакции [12, 13]. По данным Ширинского В.Г. положительное влияние серотонина на раневую процесс обусловлено не только его участием в регуляции тонуса сосудов, но и нейрорегуляторными эффектами, влиянием на синтез эндогенного оксида азота и выраженной антиоксидантной активностью [14]. Также показано, что серотонин способен стимулировать пролиферацию фибробластов и гладкомышечных волокон [15].

Серотониновые рецепторы присутствуют в различных структурах глаза животных человека: в радужной оболочке, цилиарном теле, хрусталике, водянистой влаге, слезной жидкости и сетчатке [16-20]. Какие типы клеток синтезируют и поглощают этот биогенный амин, и какие физиологические функции он выполняет в тканях глаза, до конца не изучено. Известно, что серотонин играет важную роль в поддержании гомеостаза водянистой влаги, в регуляции внутриглазного давления и микроциркуляции. Лекарственные препараты, изменяющие уровень серотонина, оказывают влияние на физиологические процессы в глазу. Например, есть данные о негативном действии ингибиторов обратного захвата серотонина в послеоперационном периоде у пациентов с катарактой [21, 22]. Препарат нафтидрофурил влияет на уровень серотонина в организме посредством селективной блокады 5-HT₂-рецепторов. Блокада данного типа рецепторов в эндотелии и гладко-мышечных клетках стенки сосудов ослабляет сосудосуживающий эффект серотонина, который выделяется из поврежденного эндотелия [23]. Препарат положительно влияет на реологические свойства крови – повышает способность эритроцитов к деформации, ингибирует агрегацию тромбоцитов и эритроцитов [24]. Пероральное применение нафтидрофурилов течение 6 месяцев повышало остроту зрения и улучшало состояние глазного дна у пациентов с непролиферативной диабетической ретинопатией (ДР) [25].

Выявлена определенная взаимосвязь между уровнем серотонина в крови и наличием заболеваний глаз, включая возрастную макулярную дегенерацию, катаракту, глаукому, тромбоз центральной вены сетчатки, центральную серозную хориоретинопатию, ретинопатию недоношенных, ДР [25-27].

У больных с препролиферативной ДР и центральной хориоретинопатией обнаружена тромбозопатия и снижение концентрации серотонина в крови, однако при прогрессировании ДР отмечалось повышение концентрации серотонина [26]. Сходные изменения описаны при прогрессировании ретинопатии недоношенных [28]. Считается, что с возрастом в организме количество циркулирующего в крови серотонина становится недостаточным для поддержания нормального функционирования гладкой мускулатуры. Минимальные уровни серотонина отмечаются у пожилых людей, причем характерно развитие относительной серотониновой недостаточности. Она проявляется не только снижением абсолютного количества серотонина в крови, но и относительным уменьшением воздействия его на серотониновые рецепторы. Известно, что у

больных с сахарным диабетом нарушены реологические свойства крови, и ферропротеины, поступающие в кровь при разрушении эритроцитов, блокируют серотониновые рецепторы кровеносных сосудов микроциркуляторного русла [1,29, 30].

В работах нашего центра было показано, что не только сыворотка крови, но и слезная жидкость может быть информативным источником маркеров состояния переднего и заднего отдела глаза[31,32]. Показаны изменения концентрации компонентов локальной ренин-ангиотензиновой системы, альфа-2 макроглобулина в слезе у пациентов с ДР. Описано снижение уровня серотонина в водянистой влаге у пациентов в ДР[33], однако в доступной литературе не найдено данных об определении его в слезе у таких пациентов.

Цель работы: определение концентрации серотонина в слезной жидкости у пациентов с пролиферативной ДР.

Материалы и методы: В исследование включено 10 пациентов (20 глаз) с пролиферативной ДР. Средний возраст пациентов составил 57±11 лет. В основную группу включено 5 мужчин и 5 женщин. У всех пациентов не менее, чем за 1 год до включения в исследование проведена панретинальная лазеркоагуляция, дополнительная лазеркоагуляция на момент исследования не требовалась. На 3 глазах определялся макулярный отек, на 5 глазах ранее была проведена витрэктомия, на 2 глазах определялась вторичная глаукома со стабилизацией ВГД на момент исследования. У 3 пациентов диагностирован сахарный диабет 1 типа, у 7 пациентов – сахарный диабет 2 типа. Отмечалась относительная компенсация уровня гликемии, уровень гликированного гемоглобина в среднем по группе составил 7%. У 80% пациентов диагностирована гипертоническая болезнь, артериальное давление компенсировано приемом гипотензивных препаратов. Группу сравнения составили 5 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемой группой.

Забор слезы проводили утром до закапывания лекарственных препаратов с помощью полосок фильтровальной бумаги шириной 5 мм, которые закладывали за нижнее веко на 5 минут (аналогично тесту Ширмера). Компоненты слезы элюировали с помощью физиологического раствора, образцы хранили до исследования при температуре -70°C. Концентрацию серотонина в слезной жидкости определяли методом иммуноферментного анализа с помощью диагностических наборов (Cloud-CloneCorp, США). Статистический анализ проводили с помощью программ Exelli Statistica.

Результаты исследования: В группе здоровых добровольцев уровень серотонина в слезе составил 5,09±0,31 нг/мл. У пациентов с пролиферативной ДР уровень серотонина составил 4,01±0,40 нг/мл, отличие от контрольной группы было статистически достоверно ($p \leq 0,05$). Значимой зависимости уровня серотонина от возраста, пола пациентов и особенностей клинического течения ДР у пациентов основной группы выявлено не было.

Заключение и выводы.

Слезная жидкость является информативным источником для определения широкого спектра биохимических маркеров заболеваний глаз. Концентрация серотонина в слезной жидкости достаточна для надежного определения методом иммуноферментного анализа. Выявлено достоверное снижение уровня серотонина в слезе пациентов с пролиферативной ДР, что свидетельствует о роли данного биогенного амина в патогенезе заболевания. Дальнейшие работы в данном направлении помогут более точно определить роль серотонина в сложном каскаде патофизиологических реакций, наблюдающихся у пациентов с ДР, персонализировать подходы к ведению пациентов, а также помочь в разработке новых методов лечения ДР.

Список литературы.

1. Шур, М. А. Самотруева, М. В. Мажитова [и др.]. Серотонин: биологические свойства и перспективы клинического применения / В. Ю. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7-3. – С. 621-629. – EDN SHRIVD.
2. Cohen Z., Bouchelet I., Olivier A., Villemure J.G., Ball R., Stanimirovic D.B., Hamel E. Multiple microvascular and astroglial 5-hydroxytryptamine receptors subtypes in human brain: molecular and pharmacologic characterization. *J.Cereb. Blood Flow Metab.* 1999; 9(8): 908-917.
3. Kaplan K.L., Broekman M.J., Chernoff A. Platelet a-granule proteins: studies on release and subcellular localization. *Blood.* 1979; 53(4): 604-618.
4. Elhadd T., Kirk G., McLaren M., Newton R., Greene S., Belch J. Endothelial integrity, soluble adhesion molecules and platelet markers in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 1999; 16(1): 86-87.

5. Звенигородская Л. А., Кучеренко Т. В. Типы пищевого поведения и гормоны пищевого поведения у больных с метаболическим синдромом // Эксперим. и клин.гастроэнтерол. — 2007. — № 1. — С. 24 - 27.
6. Симоненков А.П., Фёдоров В.Д. Профилактика и лечение серотониновой недостаточности у хирургических больных // Хирургия. — 2003. — № 3. — С. 76–80.
7. Симоненков А.П., Кложев В.М. Синдром серотониновой недостаточности. — М.: Изд-во Бинум, 2013. — 96 с.
8. Лужников Е.А., Маткевич В.А., Савина А.С. и др. Влияние серотонина адипината на сердечно-сосудистую систему у больных с нарушениями кровообращения при острых отравлениях психофармакологическими препаратами // Реаниматология на рубеже XXI века. — М., 1996. — С.303–305.
9. Симоненков А.П., Кложев В.М., Ардашев В.Н. и др. Применение серотонина адипината для улучшения сократительной активности гипокинетических зон миокарда // Военно-медицинский журнал. — 2002. — № 1. — С. 31–35.
10. Лазаренко В.А., Симоненков А.П., Лазарев Е.В. Концепция применения серотонина у больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей в стадии «критической ишемии» // Актуальные проблемы медицины и фармации. — Курск, 2001. — С. 307–309.
11. Симоненков А.П., Фёдоров В.Д., Кложев В.М., Ардашев В.Н. Применение серотонина адипината для восстановления нарушенной функции гладкой мускулатуры у хирургических и терапевтических больных // Вестник интенсивной терапии. — 2005. — № 1. — С. 53–57.
12. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т.6, № 4. — С. 9–21.
13. Лазаренко В.А., Николаев С.Б., Быстрова Н.А., Конопля А.И. Коррекция иммуно-метаболических нарушений у больных с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза // Человек и его здоровье. — 2010. — № 2. — С. 77–83.
14. Ширинский В.Г. Стимуляция заживления и профилактика гнойных осложнений послеоперационных ран передней брюшной стенки в неотложной абдоминальной хирургии: автореф. дис. ... д-ра мед.наук. — М., 2007. — 44 с
15. Ахмедов Б.А. Оптимизация методов лечения раненых с огнестрельными переломами костей конечностей: автореф. дис. ... д-ра мед.наук. — СПб., 2010. — 46 с.
16. J.Masson Serotonin in retina Biochimie, 161 (2019), pp.51-55 <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.11.006>
17. P. Chhadva, T. Lee, C.D. Sarantopoulos, A.S. Hackam, A.L.McClellan, E.R. Felix, et al. Human tear serotonin levels correlate with symptoms and signs of dry eye Ophthalmology, 122 (8) (2015), pp. 1675-1680 <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.04.010>
18. Martin XD, Brennan MC. Serotonin in Human Tears. European Journal of Ophthalmology. 1994;4(3):159-165. doi:10.1177/112067219400400305
19. Osborne NN. Serotonin and melatonin in the iris/ciliary processes and their involvement in intraocular pressure. ActaNeurobiolExp (Wars). 1994;54 Suppl:57-64. PMID: 7801793.
20. Imada T, Nakamura S, Hisamura R, Izuta Y, Jin K, Ito M, Kitamura N, Tanaka KF, Mimura M, Shibuya I, Tsubota K. Serotonin hormonally regulates lacrimal gland secretory function via the serotonin type 3a receptor. Sci Rep. 2017 Jul 31;7(1):6965. doi: 10.1038/s41598-017-06022-4. PMID: 28761086; PMCID: PMC5537296.
21. Eriel C., Brues M., Chamberlain A.M., Hodge D.O. Selective serotonin reuptake inhibitor use and increased risk of cataract surgery: a population-based, case-control study. Am.J.Ophthalmol. 2014; 158(1): 192-197.
22. Etmann M., Mikelberg F.S., Brophy J.M. Selective serotonin reuptake inhibitors and the risk of cataracts: a nested case-control study. Ophthalmology. 2010; 117(6): 1251 -1255.
23. Goldsmith D.R., Wellington K. Naftidrofuryl: a review of its use in the treatment of intermittent claudication. Drugs Aging. 2005; 22 (11): 967 -977.
24. Marconi A., Darquenne S., Boulmerka A., Mosnier M., D'Alessio P. Naftidrofuryl driven regulation of endothelial ICAM-1 involves nitric oxide. Free Radic. Biol. Med. 2003; 34 (5): 616 -625
25. Маркова Е.Ю., Полунина Е.Г., Куренков В.В., Гадава М.И. Перспективы применения селективных блокаторов серотониновых 5-HT₂-рецепторов в офтальмологии. Офтальмология. 2015;12(1):76-82. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2015-1-76-82>

26. Муха А.И., Корзенкова Л.В., Федорова Н.В., Сырмаятникова Е.Д. Значение серотонина в патогенезе диабетической ретинопатии и центральной хориоретинальной дистрофии. Вестник офтальмологии. 2002 г., июль-август; 118(4):31-33. PMID: 12371320.
27. Корсакова Н. В., Сергеева В. Е. Сравнительный анализ уровня серотонина в хрусталике человека при формировании разных видов возрастной катаракты //Сибирский консилиум. – 2007. – Т. 58. – №. 3. – С. 19.
28. Катаргина Л. А. и др. Роль изучения патогенеза ретинопатии недоношенных в оптимизации скрининга заболевания. – 2021.
29. Р. А. Гундорова, А. И. Муха, А. П. Симоненков [и др.]. Способ моделирования хронической серотониновой недостаточности : № 2004109723/14 : заявл. 01.04.2004 : опубл. 10.11.2005 / ; заявитель Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца МЗ РФ. – EDNVSİYND. Патент № 2263975 С1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61K 35/18, A61P 43/00.
30. А. И. Муха, В. В. Нероев, А. А. Филина [и др.]. Способ лечения серотониновой недостаточности у больных диабетической ретинопатией : № 2001125981/14 : заявл. 25.09.2001 : опубл. 20.02.2003 / ; заявитель Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца. – EDNVCUSKR. Патент № 2198634 С1 Российская Федерация, МПК A61F 9/00, A61K 31/522, A61K 31/695.
31. В. В. Нероев, Н. Б. Чеснокова, Т. А. Павленко [и др.]. Активность альфа-2-макроглобулина в слезной жидкости при пролиферативной диабетической ретинопатии // Инновационные технологии в эндокринологии : Сборник тезисов IV (XXVII) Национального конгресса эндокринологов с международным участием, Москва, 22–25 сентября 2021 года. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Типография "Печатных Дел Мастер", 2021. – С. 112.
32. В. В. Нероев, Н. Б. Чеснокова, Т. Д. Охочимская [и др.]. Определение ангиотензина II в слезной жидкости и сыворотке крови у больных с диабетической ретинопатией // Таврический медико-биологический вестник. – 2019. – Т. 22. – № 3. – С. 32-36.
33. Veglio F, De Sanctis U, Schiavone D, Cavallone S, Mulatero P, Grignolo FM, Chiandussi L. Evaluation of serotonin levels in human aqueous humor. *Ophthalmologica*. 1998;212(3):160-3. doi: 10.1159/000027268. PMID: 9562088.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ МЕТОДОМ ПЦР В КРОВИ И ВНУТРИГЛАЗНЫХ ЖИДКОСТЯХ У БОЛЬНЫХ РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ, УВЕИТАХ НЕВЫЯСНЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ С ЭКССУДАЦИЕЙ В СТЕКЛОВИДНОЕ ТЕЛО, ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ, ВРОЖДЕННЫМИ КАТАРАКТОЙ И ГЛАУКОМОЙ

Балашова Л.М.^{1,2}, Кузнецова Ю.Д.^{1,2}, Лесовой С.В.^{1,2}, Коробова Л.С.^{1,2}, Бакунина Н.А.^{1,2}, Стенина М.А.¹, Быковская С.Н.¹, Салмаси Ж.М.¹

¹ФГАОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва

²МП Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Россия

Резюме.

Ретинопатия недоношенных – тяжелое заболевание глаз, развивающееся преимущественно у глубоко недоношенных детей, сопровождающееся изменениями в сетчатке и стекловидном теле (Википедия).

Диабетическая ретинопатия является причиной слепоты и слабовидения как у пожилых больных (сахарный диабет II типа, сахарный диабет II типа-инсулинопотребный), так и у людей трудоспособного возраста, а также у детей (сахарный диабет I типа). Особенно способствует снижению зрения диабетическая макулопатия (чаще встречается у людей среднего и пожилого возраста) и пролиферативная форма заболевания, которая нередко протекает с поражением макулы.

При исследовании с помощью полимеразной цепной реакции клеток крови и внутриглазных жидкостей у детей с ретинопатией недоношенных до года и больных врожденными катарактой и глаукомой до года; больных с воспалительными заболеваниями глаза (uveитами) и организма, сопровождающимися лейкоцитозом, пожилых людей и подростков с сахарным диабетом I и II типов и пролиферативной диабетической ретинопатией было определено, что наиболее высокие уровни экспрессии генов различных цитокинов по мере их снижения были выявлены при увеитах, ретинопатии недоношенных и пролиферативной диабетической ретинопатии всех возрастов.

Эти наблюдения являются основой для разработки новых методов коррекции возникающих клинических нарушений при данной патологии.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, увеиты, воспаление, пролиферативная диабетическая ретинопатия, катаракта, глаукома, полимеразная цепная реакция, экспрессия генов цитокинов.

RETINOPATHY OF PREMATURITY, UVEITIS, PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY, CATARACT AND GLAUCOMA: PROINFLAMMATORY AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE DEVELOPMENT OF DISEASES.

Balashova L.M.^{1,2}, Kuznetzova U.D.^{1,2}, Lesovoy S.V.², Korobova L.S.^{1,2}, Bacunina N.A.^{1,2}, Stenina M.A.¹, Bykovskaya S.N.¹, Salmasy J.M.¹

¹ Pirogov Russian National Research Medical University (SRL of Pediatric Ophthalmology, Department for Cell Technology and regenerative medicine), 117997, Ostrovitianov str. 1. ²NP International Scientific and Practical Center for tissue proliferation (Department of experimental and clinical ophthalmology), 119034, Kropotkinskaya str. 29/14. Moscow, Russia.

Resume.

Retinopathy of prematurity (the vasoproliferation diseases), diabetic retinopathy (type II diabetes mellitus, type II diabetes mellitus-insulin) are the causes of blindness and poor vision in elderly patients, as well as in people of working age, as well as in children (type

I diabetes). Especially contributes to vision reduction diabetic maculopathy (more common in the elderly) and proliferative form of the disease, which also occurs often with macular lesions.

In the study of polymerase chain reaction of the cells of blood and intraocular fluids of adults and adolescents with diabetes, retinopathy of prematurity up to a year, children up to a year with cataract and glaucoma and patients with inflammatory diseases of eyes (uveitis) and of the body, accompanied by leukocytosis, it was determined that the highest levels of expression the genes of various cytokines were detected in inflammatory diseases, retinopathy of prematurity and proliferative diabetic retinopathy of all ages.

These observations are the basis for the development of new methods of correction of clinical disorders in this pathology.

Key words: proliferative diabetic retinopathy, retinopathy of prematurity, uveitis, inflammation, cataract, glaucoma, polymerase chain reaction, expression the genes of cytokines.

С начала 90-х годов XX века в нашей стране изучается роль цитокинов при различных глазных заболеваниях (1-10). Для этого использовались различные варианты иммуноферментного анализа (наиболее известен - ELISA), с помощью которых определялись антитела к различным цитокинам.

В последнее время с целью выявления этих биологически активных веществ используется полимеразная цепная реакция (ПЦР), с помощью которой определяется экспрессия генов цитокинов в клетках крови и внутриглазных жидкостей при патологии. В нашей статье мы используем именно этот метод и **целью** работы является определение различных цитокинов (26 веществ) у больных с офтальмопатологиями – ретинопатией недоношенных (РН), увеитами невыясненной этиологии с экссудацией в стекловидное тело и других воспалительных заболеваниях организма, сопровождающихся лейкоцитозом, пролиферативной диабетической ретинопатией, врожденными катарактой и глаукомой.

Материалы и методы. Всего обследован 106 пациентов (212 глаз, включая здоровые парные глаза у ряда больных и здоровые глаза у пациентов с общей острой воспалительной патологией) в возрасте от 1,5 месяцев до 80 лет. Кровь для исследования из периферической вены взята на операционном столе до операции. Всего сделано 1872 исследования экспрессии генов цитокинов.

Обследованы 34 больных (48 глаз) с пролиферативной диабетической ретинопатией (на стадии некоторого понижения активности при компенсированном сахарном диабете), из них - в возрасте от 16 до 32 лет с сахарным диабетом I типа - 14 пациентов (8 мальчиков и мужчин, 6 девочек и женщин), в возрасте от 59 до 80 лет с сахарным диабетом второго типа – 20 больных и пациентов (14 женщин, 6 мужчин), с III-V стадиями ретинопатии недоношенных в возрасте от 1,5 месяцев до 1 года - 29 больных (58 глаз) (16 мальчиков, 13 девочек), из них активная стадия – 20 больных (40 глаз), регресс и рубцовая стадия – 9 пациентов (18 глаз).

Недоношенные дети имели в анамнезе перинатальное поражение центральной нервной системы II-III степени, анемию недоношенных, внутриутробную пневмонию с дыхательной недостаточностью I-3 степени, ишемическое поражение перивентрикулярной области, внутрижелудочковые кровоизлияния II-III степени, некротизирующий энтероколит, изменение гемодинамики в связи с пороками развития сердечно-сосудистой системы. Выживание этих детей происходило с использованием кислорода от нескольких суток до 1 месяца, в единичных случаях – дольше.

Исследовано 38 проб при исследовании клеток внутриглазных жидкостей, взятых во время витректомии, в течение антиглаукоматозных операций и во время экстракции катаракты: 6 – у взрослых, пожилых больных с пролиферативной диабетической ретинопатией, 7 - у взрослых молодых людей с пролиферативной диабетической ретинопатией и 9 - у детей с ретинопатией недоношенных, из них 6 – у больных с активной стадией РН, 3 – у больных с рубцовой стадией РН, 5-ти больных с увеитами со значительной экссудацией в стекловидное тело; также клетки внутриглазных жидкостей были исследованы у 12 больных врожденной катарактой и 10 больных врожденной глаукомой.

В дополнительную группу сравнения вошли также 21 больной с острыми воспалительными заболеваниями – острый аппендицит, артрит, аднексит (13 больных в возрасте от 16 до 40 лет) и с рецидивирующим увеитом невыясненной этиологии

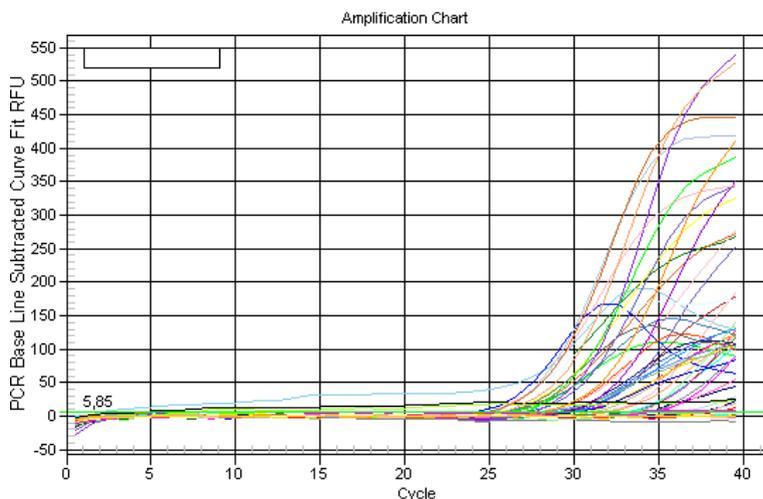
в острой фазе воспаления со значительной экссудацией в стекловидное тело (5 больных в возрасте от 12 до 34 лет), у которых наблюдался в крови лейкоцитоз и которые были прооперированы. Со стороны глаз у больных общей острой воспалительной патологией патологических изменений не было выявлено.

Было произведено исследование экспрессии генов физиологически активных веществ – цитокинов IL1b, IL1a, IL6-1, IL6-2, IL7, IL8, IL10, IL12a, IL18, TNF-альфа, IGF1, IFNg, VEGFA₁₆₅, GM-CSF2, HIF, IL1RA, IL6R, VEGFA₁₆₅R1, IFNgR1, IFNgR2, GM-CSF2RA, TNFRSR1A, TNFR1B, IGF1R, FGF1, FGF1R (26 цитокинов) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР-амплификатор BioRad IQ-5) в клетках крови, стекловидного тела (у больных РН, увеитами и ПДП) и жидкости передней камеры (у больных катарактой и глаукомой). Оценка количества копий генов цитокинов на ед. объема жидкости была произведена по результатам нормализации.

Пример исследования

PCR Quantification Data

PCR Amp/Cycle Chart



При статистической обработке полученных результатов использовался критерий Стьюдента и модуля «Вероятностный калькулятор».

Результаты. В таблице 1 и на рисунке 1.1-26.А-В. представлены результаты исследования экспрессии генов цитокинов у больных ретинопатией недоношенных, острых воспалительных заболеваний и пролиферативной диабетической ретинопатией и групп сравнения – врожденных катаракты и глаукомы (на рисунке - индивидуальный анализ крови).

Как представлено в таблице 1, в группах сравнения во внутриглазных жидкостях у больных с врожденными катарактой и глаукомой экспрессия генов цитокинов в высоких значениях $>50,0$, в основном, не определялись и была выявлена в незначительных ($<50,0$) количествах у большинства больных. При острых воспалительных заболеваниях количественные уровни экспрессии генов воспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови и внутриглазных жидкостях были статистически достоверно выше ($p<0,05$), чем у пациентов с активной васкуляризацией в стекловидном теле при ретинопатии недоношенных и, особенно, пролиферативной диабетической ретинопатии (табл.1, рис 1.1-26.А-В.).

Наиболее часто в высоких количественных значениях (от 50,0 до единиц, десятков и сотен миллионов) в клетках крови выявлялась экспрессия генов цитокинов IL-6-2, IL-8, IL-10, IGF-1, IFNg, VEGFA₁₆₅, HIF, VEGFA₁₆₃R1, IFNgR1, IGFR1 (рис 1.1-26.А-В). Самые низкие значения экспрессии IL-8 у больных ретинопатией недоношенных - как правило, он не определяется, но выявлялся при воспалении наряду с экспрессией IL-6-2, IL-10, IGF1, VEGFA₁₆₅, VEGFA₁₆₃R1. Экспрессия генов IFNg и HIF (гипоксией индуцированный фактор) при РН, наоборот, обнаруживалась в самых высоких значениях по сравнению со всеми другими патологиями ($p < 0,05$). В клетках стекловидного тела у пациентов с увеитами были обнаружены очень высокие значения экспрессии генов IL1, IL6-2 и TNF-альфа. У больных с компенсированным сахарным диабетом и снижением активности ПДР значения экспрессии генов этих цитокинов, как правило, выявлялись в более низких значениях по сравнению с вышеописанными группами. У пациентов с катарактой и глаукомой очень высокие значения экспрессии выявлялись в единичных случаях и в целом уровни цитокинов были ниже, чем при воспалительных заболеваниях, ретинопатии недоношенных и пролиферативной диабетической ретинопатии.

Таким образом, при исследовании с помощью полимеразной цепной реакции клеток крови и внутриглазных жидкостей взрослых, пожилых людей и подростков с сахарным диабетом, ретинопатией недоношенных до года, увеитов и больных острой воспалительной патологией организма, сопровождающейся лейкоцитозом, соматически здоровых детей с врожденными катарактой и глаукомой до года было определено, что наиболее высокие уровни экспрессии генов различных цитокинов были выявлены, в основном, по убыванию уровней экспрессии при воспалительной патологии, включая увеиты, ретинопатии недоношенных и пролиферативной диабетической ретинопатии всех возрастов.

Выводы. 1. Наиболее часто экспрессия генов цитокинов в клетках крови и внутриглазных жидкостей выявляется при острой воспалительной патологии, включая увеиты, активной ретинопатии недоношенных и пролиферативной диабетической ретинопатии (наши больные оперировались на стадии понижения активности при компенсированном сахарном диабете) всех возрастов по убывающим линиям тренда: острое воспаление – РН - ПДР(ПДН) – катаракта - глаукома.

2. У больных с врожденными катарактой и глаукомой в клетках внутриглазных жидкостей экспрессия генов цитокинов в высоких значениях $>50,0$, в основном, не определялась и была выявлена в незначительных ($<50,0$) количественных уровнях у большинства больных, что их существенно отличало от пациентов с острым воспалением, РН и ПДР(ПДН).

Эти наблюдения являются основой для разработки новых методов коррекции возникающих клинических нарушений при данной патологии.

Список литературы.

1. Балашова Л.М. Роль иммуномодулирующих факторов в патогенезе, клинике и рациональном лечении пролиферативных процессов при первичной открытоугольной глаукоме, дистрофической отслойке сетчатки и диабетической ретинопатии. Автореф. докт. дисс. – Москва, 1998.
2. Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Коробова Л.С. Ретинопатия недоношенных и диабетическая ретинопатия: провоспалительные и противовоспалительные факторы при данных заболеваниях //III Российский конгресс с международным участием «Пролиферативный синдром в биологии и медицине». Москва, 29-30 ноября 2018 С.63-75
3. Иванова Н.В., Копаненко А.И. Перспективы диагностики и лечения передних эндогенных увеитов (обзор литературы) //РМЖ «Клиническая Офтальмология». 2014 №3 С. 172-176
4. Катаргина Л.А., Слепова О.С., Демченко Е.Н., Осипова Н.А. Роль системного дисбаланса цитокинов в патогенезе ретинопатии недоношенных //Российская педиатрическая офтальмология. 2015; 4: 16-19
5. Качегура Л.В., Борзенко С.А., Комах Ю.А., Петричук С.В. Клинико-иммунологические особенности послеоперационного периода у детей с врожденными катарактами //Практическая медицина. 2013 №1 сентябрь, С.13-17
6. Колеченкова И.В. Клинико-иммунологические аспекты в комплексном лечении увеитов у детей с применением транскутанного светодиодного облучения крови. Автореф. канд. дисс., М., 2014

7. Кузнецова Ю.Д. Особенности Т- и В- клеточного иммунитета у детей с ретинопатией недоношенных. Автореф. канд.дисс. – Москва, 2017.
8. Сидоренко Е.Е. Проблемы ангиогенеза сосудов сетчатки у недоношенных детей (обзор литературы) //Российская детская офтальмология. 2018 №1 С.46-53
9. Сидоренко Е.И. Новая концепция патогенеза ретинопатии недоношенных //Российская детская офтальмология. 2020 №3 С.5-12
10. Шах Парат К., Прабху В., Карандикар С.С. с соавт. Ретинопатия недоношенных: прошлое, настоящее и будущее //Неонатология: новости, мнения, обучение. 2017 №2. С.20-33.

Таблица 1. Экспрессия генов цитокинов, присутствующих в клетках внутриглазных жидкостей: в стекловидном теле (СТ) и жидкости передней камеры (ЖПК) у больных с ретинопатией недоношенных, увеитами невыясненной этиологии, пролиферативной диабетической ретинопатией, врожденными катарактой и глаукомой (38 проб; количественные значения).

Заболевания	РН (СТ) n=7(9)		Увеит (СТ) n=5		ПДР (СТ) n=12(13)		Катаракта (ЖПК+СТ) n=12		Глаукома (ЖПК) n=10	
	Знач >50	Знач <50>0	Знач >50	Знач <50>0	Знач >50	Знач <50>0	Знач >50	Знач <50>0	Знач >50	Знач <50>0
Цитокины	% / Наиб выс знач	% / M±m	% / Наиб выс знач	% / M±m	% / Наиб выс знач	% / M±m	% / Наиб выс знач	% / M±m	% / Наиб выс знач	% / M±m
	IL1a	25,0/ 408,3	20,0/ 1,550± 0	100 / 2510 9млн	0/0	20,0/ 8 млн	77,8/ 0,003 ±0,002	0/0	0/0	0/0
IL1b	25,0/ 500 млн	100 / 0,603± 0,580	60,0/ 1032 1млн	50,0/ 1,046± 0	20,0/ 116 млн	74,8/ 0,030± 0,028	0/0	60,0/ 0,090+ 0,06	0/0	40,0/ 0,002± 0,001
IL6-1	71,4*/ 2756 млн	100 / 0,01± 0	80,0/ 9492, 024	0/0	50,0/ 63 млн	100 / 0,968± 0,818	0/0	50,0/ 0,120± 0,070	0/0	40,0/ 0,004± 0,002
IL6-2	0/0	14,3 / 19,63± 0	-	-	16,7/ 367 млн	90,0/ 2,310± 2,304	0/0	33,3/ 0,840± 0*	0/0	40,0/ 0,002± 0,001
IL7	12,5/ 6 млн	100 / 1,375± 1,035	-	-	7,7/ 4 млн	75,0/ 0,681± 0,650	16,7/ 6 млн	20,0/ 0,070± 0	0/0	40,0/ 0,003± 0,002

IL8	0/0	100 / 0,236± 0,015	-	-	0/0	84,7/ 0,202± 0,152	0/0	50,0/ 0,750± 0,500*	0/0	20,0/ 0,001± 0
IL10	0/0	85,7/ 0,137± 0,026	-	-	8,3 / 75, 584	83,3/ 2,850± 2,530	0/0	17,0/ 2,450± 0*	0/0	60,0/ 0,002± 0,002
IL12a	28,6/ 21 млн	60,0/ 0,039± 0,028	-	-	0/0	50,0/ 0,025± 0,024	0/0	17,0/ 0,020± 0	0/0	40,0/ 0,006± 0,005
IL18	83,3*/ 42 790	0/0	-	-	0/0	63,6/ 11,394± 11,324*	50,0*/ 4279 0,41	33,3/ 0,060± 0	0/0	60,0/ 7,768± 7,762**
TNF-a	14,3/ 53 млн	83,3/ 0,623± 0,593	100 / 9593 40,25	0/0	18,2/ 458, 253	77,7/ 0,816± 0,810	0/0	50,0/ 0,440± 0,420*	0/0	0/0
IGF1	0/0	100 / 0,504± 0,464	-	-	0/0	83,3 / 0,079± 0,059	0/0	50,0/ 0,200± 0,180	0/0	60,0/ 0,004± 0,003
IFNg	0/0	100 / 36,96± 36,88*	-	-	0/0	81,8/ 4,419± 4,414*	0/0	0/0	0/0	60,0/ 0,021± 0,020
VEGF-A	0/0	100 / 0,364± 0,313	-	-	0/0	83,3/ 0,786± 0,656	0/0	50,0/ 0,630± 0,560*	0/0	60,0/ 0,121± 0,120*
CSF2	28,6/ 333,1	100 / 0,952± 0,861	-	-	9,1 / 111, 817	90,0/ 5,917± 5,846*	17,0/ 70,0	40,0 0,110± 0,002	0/0	60,0/ 0,136± 0,086*
HIF	14,3/ 1,3 млн	33,3/ 0,608± 0,597	-	-	0/0	90,0/ 5,751± 5,730*	0/0	50,0/ 0,460± 0,420*	0/0	60,0/ 0,017± 0,015
IL1R	85,7*/ 5976, 15	0/0	-	-	0/0	75,0/ 0,390± 0,020	17,0/ 3385, 14	0/0	0/0	40,0/ 0,013± 0,015
IL6R	28,5/ 23	100 / 3,990±	-	-	11,1/ 89,	87,5/ 0,996±	0/0	33,3/ 0,004±	0/0	60,0/ 0,104±

	млн	3,900*			264	0,962		0,002		0,101*
VEGFR	12,5/ 323,0	87,5/ 0.370± 0,360	-	-	0/0	90,0/ 1,409+ 1,365	0/0	50,0/ 0,004± 0,002	0/0	60,0/ 0,185± 0,180*
IFNgR1	42,9*/ 2592, 27	50,0/ 7,200± 1,140*	-	-	37,5/ 2497 28,3	80,0/ 3,421± 3,121*	0/0	17,0/ 0,010± 0	0/0	60,0/ 0,246± 0,180*
IFNgR2	85,7*/ 10586 ,95	100 / 19,97* *±0	-	-	40,0/ 3359 62,3	100 / 0,144± 0,140	0/0	17,0/ 0,002± 0	0/0	60,0/ 0,153± 0,151*
CSF2R1A	85,7*/ 98647 ,85	0/0	-	-	20,0/ 2139 5,2	100 / 0,010± 0,008	0/0	0/0	0/0	20,0/ 0,010± 0
TNFR1A	42,9*/ 47415 5,26	80,0/ 0,277± 0,270	-	-	11,1/ 8209 4,6	87,5/ 3,191± 3,141*	0/0	40,0/ 0,070+ 0	0/0	40,0/ 0,079± 0,018
TNFR1B	42,9*/ 22 млн	100 / 0,115± 0,095	-	-	18,2/ 2078 23,6	77,8/ 0,628± 0,618	0/0	33,3/ 0,060± 0,040	0/0	40,0/ 0,191±± 0,187*
IGFR1	40,0*/ 7904 млн	100 / 0,277± 0,256	-	-	0/0	100 / 3,964± 3,960*	20,0/ 51,98	25,0/ 2,350± 0*	0/0	80,0/ 0,101± 0,061*
FGF1	-	-	60,0/ 3547, 6	100 / 5,579± 5,570*	16,7/ 118, 603	100 / 14,626± 14,420* *	0/0	16,7/ 0,231± 0*	0/0	60,0/ 0,546± 0,465*
FGF1R	-	-	-	-	0/0	88,9/ 2,104± 2,100*	-	-	0/0	60,0/ 0,896± 0,871*

*- p<0,01 внутри групп

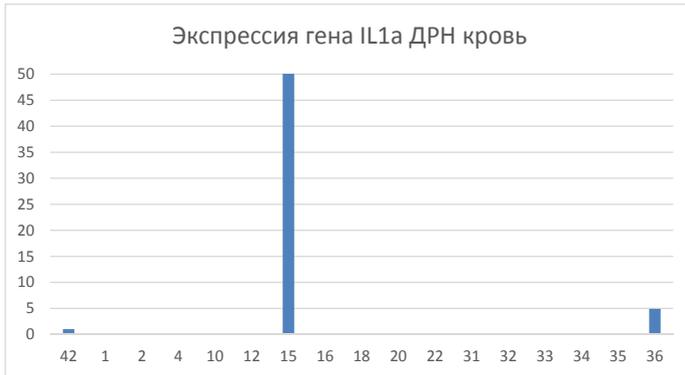
** - p<0,001 внутри групп



1.1.A. РН. IL1альфа.

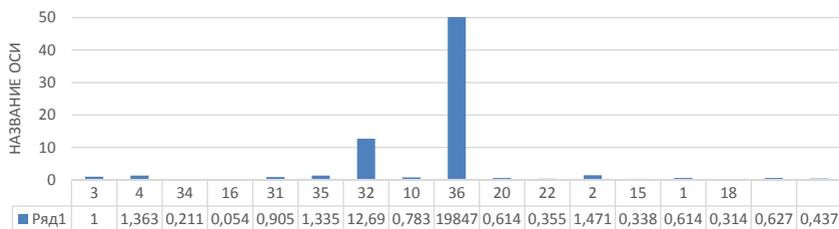


1.1.B. IL1альфа.



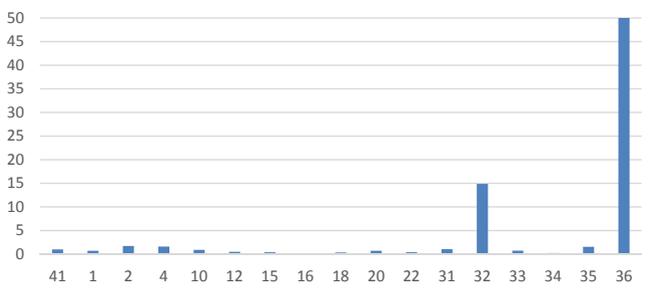
1.1.B. IL1альфа.

Экспрессия гена IL1 β (нормализация на кровь)



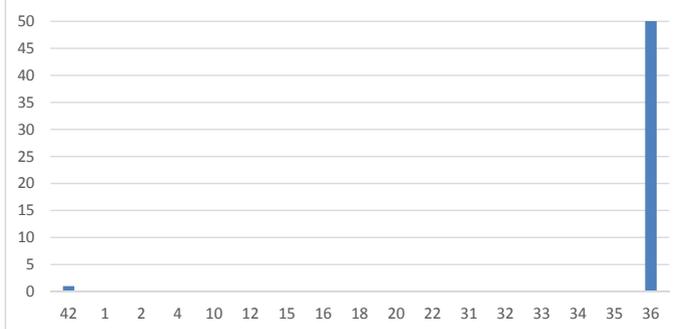
1.2.A. PH. IL1бета.

Экспрессия гена IL1b воспаление кровь

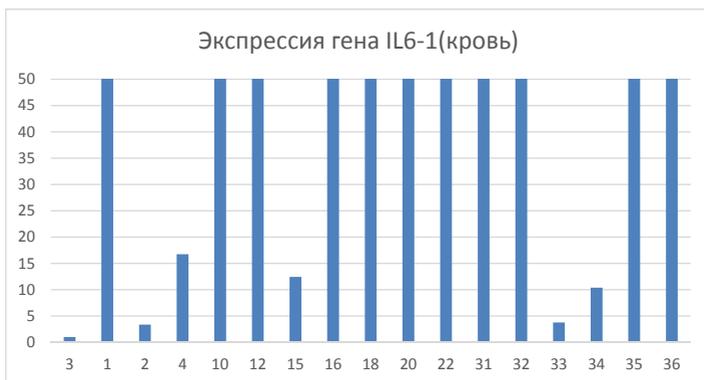


1.2.B. IL1бета.

Экспрессия гена IL1b ДРН кровь



1.2.B. IL1бета.



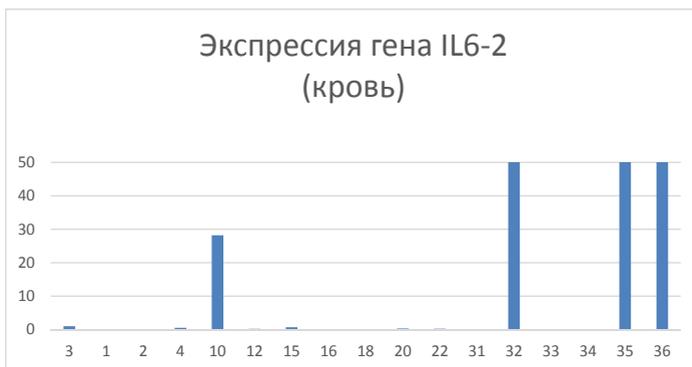
1.3.A. PH. IL6-1.



1.3.5. IL6-1.



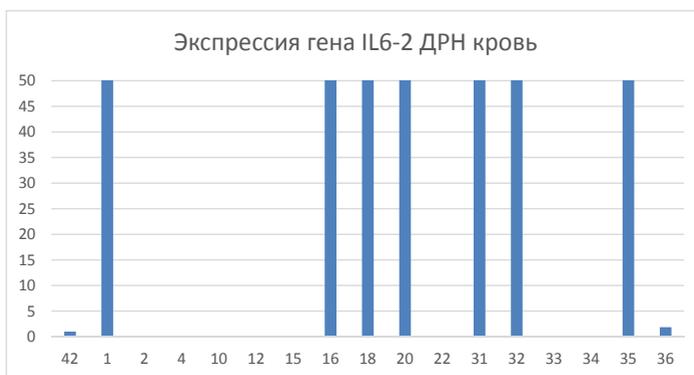
1.3.B. IL6-1.



1.4.A. РН. IL6-2.



1.4.B. IL6-2.



1.4.B. IL6-2.



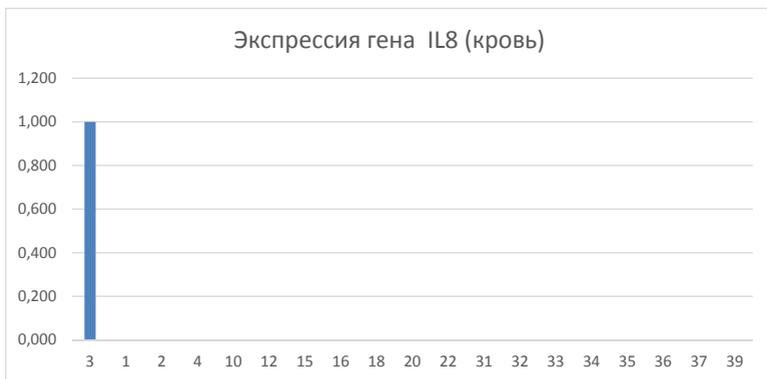
1.5.A. PH. IL7.



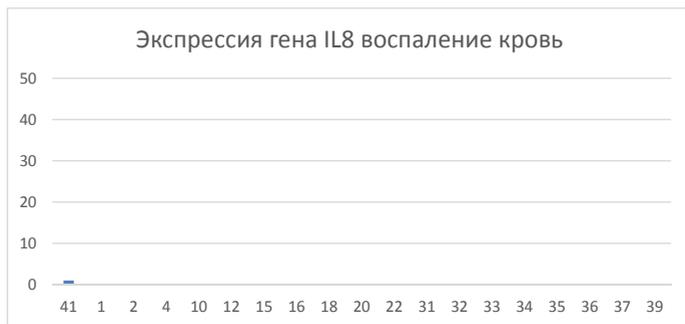
1.5.B. IL7.



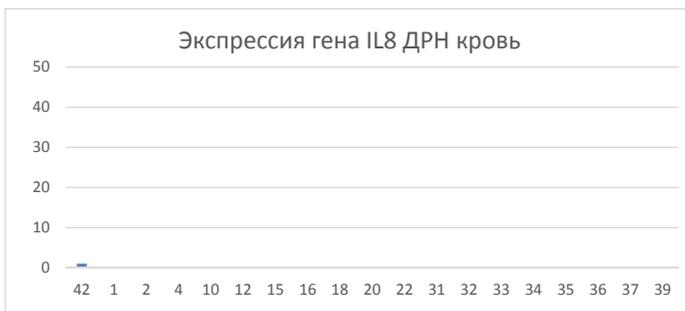
1.5.B. IL7.



1.6.A. PH. IL8.



1.6.B. IL8.



1.6.B. IL8.



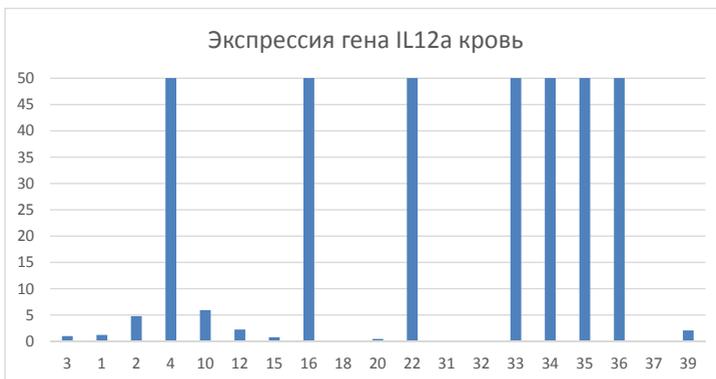
1.7.A. P.H. IL10.



1.7.B. IL10.



1.7.B. IL10.



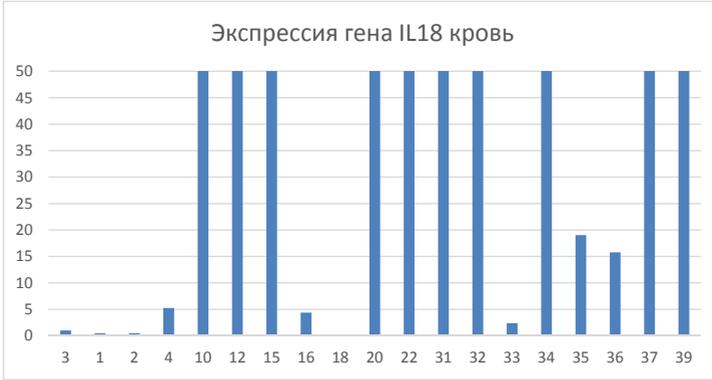
1.8.A. PH. IL12a.



1.8.B. IL12a.



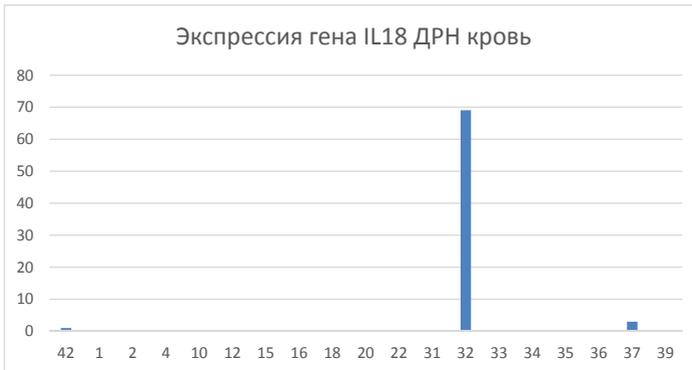
1.8.В. IL12a.



1.9.А. РН. IL18.



1.9.Б. IL18.



1.9.В. IL18.



1.10.A. РН. TNFальфа.



1.10.B. TNFальфа.



1.10.B TNFальфа.



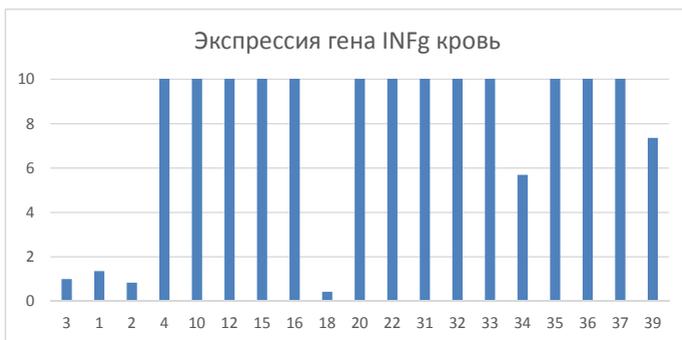
1.11.A. PH. IGF1.



1.11.B. IGF1.



1.11.B. IGF1.



1.12.A. PH. IFNгамма.



1.12.Б. IFNгамма.



1.12.В. IFNгамма.



1.13.A. PH. VEGFA₁₆₅.



1.13.B. VEGFA₁₆₅.



1.13.B. VEGFA₁₆₅.



1.14.A. PH. GM-CSF2.



1.14.B. GM-CSF2.



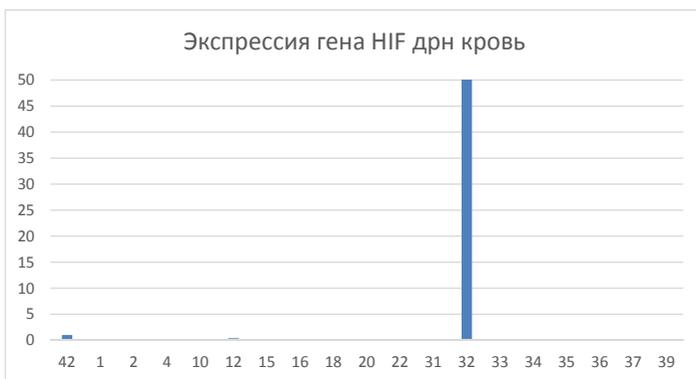
1.14.B. GM-CSF2.



1.15.A. PH. HIF.



1.15.B. HIF.



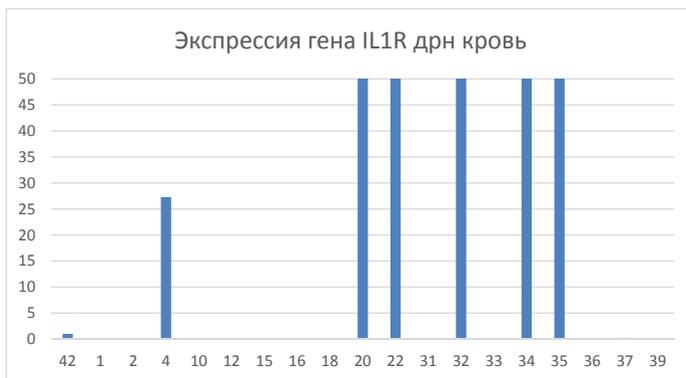
1.15.B. HIF.



1.16.A. PH. IL1RA.



1.16.B. IL1RA.



1.16.B. IL1RA.



1.17.A. PH.6R.



1.17.B. PH.6R.



1.17.B. PH.6R.



1.18.A. PH. VEGFA₁₆₅R1.



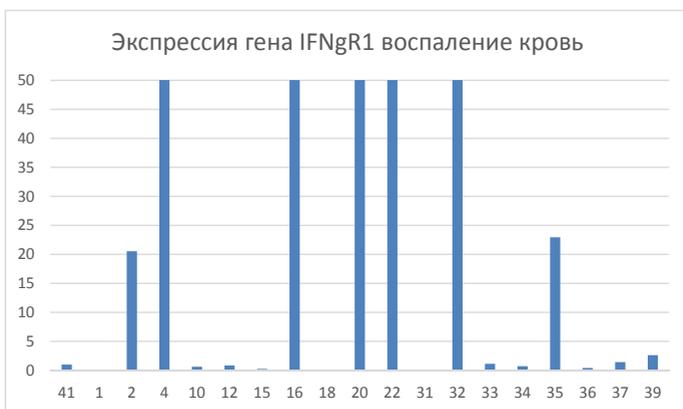
1.18.B. VEGFA₁₆₅R1.



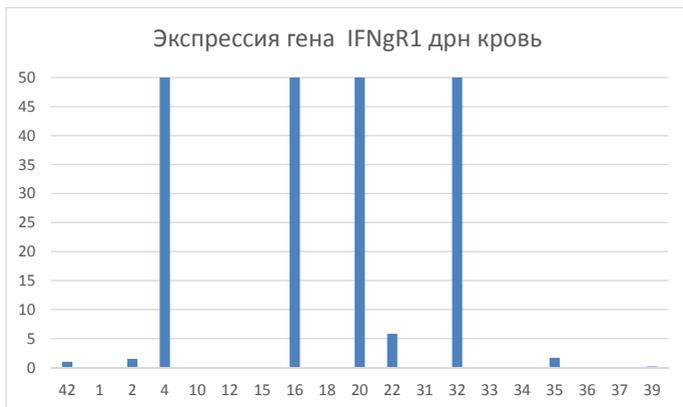
1.18.B. VEGFA₁₆₅R1.



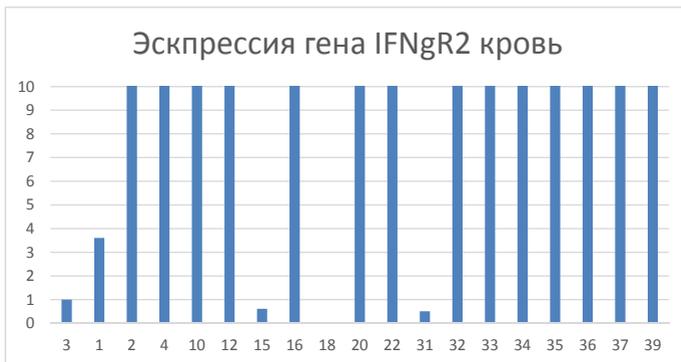
1.19.А. PH. IFN гаммаR1.



1.19.Б. IFN гаммаR1.



1.19.В. IFN гаммаR1.



1.20.A. PH. IFN гаммаR2.



1.20.B. IFN гаммаR2.



1.20.B. IFN гаммаR2.



1.21.A. PH. GM-CSF2RA.



1.21.B. GM-CSF2RA.



1.21.B. GM-CSF2RA.



1.22.A. PH. TNFRSR1A.



1.22.B. TNFRSR1A.



1.22.B. TNFRS1A.



1.23.A. PH. TNFR1B.



1.23.B. TNFR1B.



1.23.B. TNFR1B.



1.24.A. PH. IGFR1.



1.24.B. IGF1R.



1.24.B. IGFR1.



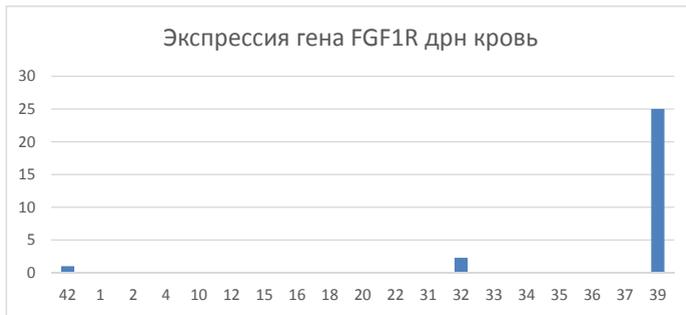
1.25.A. PH. FGF1.



1.25.B. FGF1.



1.26.A. PH. FGF1R.



1.26.В. FGF1R.

Рисунок 1.1-26.А-В. Показатели цитокинов в крови у больных ретинопатией недоношенных (А), при остром воспалении, включая увеиты (Б), и при пролиферативной диабетической ретинопатии с нефропатией (В).

ВОЗРАСТНАЯ МАКУЛЯРНАЯ ДЕГЕНЕРАЦИЯ В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА

Балашова Л.М.^{1,3}, Бакунина Н.А.^{1,3,4}, Федоров А.А., Кузнецова Ю.Д.¹, Попов А.В.¹, Винер М.Е.^{2,3}

¹Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Пролiferации Тканей России, 119034, Москва, Россия, ул. Пречистенка 29/14

²НКЦ Офтальмик, 125167 Москва, Россия Ленинградский проспект, 47/3

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

⁴ГКБ №1 им. Н.И.Пирогова, Ленинский проспект, 8, Москва, 119049, Российская Федерация

Резюме. Цель работы: произвести клинико-генетические исследования первичной хронической закрытоугольной глаукомы (ХЗУГ) и возрастной макулярной дегенерации (ВМД) для подбора патогенетически-ориентированного таргетного лечения в будущем. **Материалы и методы.** 15 пациентов с изолированным глазным пролиферативным синдромом, которые были разделены на 2 группы: 1) группа с возрастной макулярной дегенерацией (7 пациентов (14 глаз), 4 женщины, 3 мужчины в возрасте от 55 до 83 лет по результатам клинического и генетического обследования которых был подтвержден диагноз «влажной» возрастной макулярной дегенерации. 2) группа пациентов с клиническим диагнозом первичная хроническая закрытоугольная глаукома (8 пациентов, (16 глаз), 3 мужчины, 5 женщин в возрасте от 45 до 80 лет). Наблюдения за пациентами производили от 1 года до 3 лет.

Результаты. На основе разработанного алгоритма биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования можно уточнить прогноз течения пролиферативного синдрома совокупности клинических и генетических данных. В алгоритме учитывается анализ наличия мутаций в следующих генах, участвующих в процессе ангиогенеза: VEGFA, CFH, COL11A1. Генетические маркеры остаются неизменными в течение всей жизни, поэтому важно проводить данные исследования и в пожилом возрасте, открывая возможности таргетного лечения. **Заключение.** Для возможности уточнить прогноз течения хронической закрытоугольной глаукомы и возрастной макулярной дегенерации, для подбора индивидуализированной таргетной терапии этих заболеваний необходимо проведение разработанного молекулярно-генетического теста с применением биоинформатического анализа полученных данных.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, мутации в генах, пролиферативный синдром, хроническая закрытоугольная глаукома.

GENETIC MARKERS OF PROLIFERATIVE SYNDROME IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION AND CHRONIC ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA.

Larisa M. Balashova^{1,3}, Natalia A. Bakunina^{1,3}, Yulia D. Kuznetsova¹, Andrey V. Popov¹, Marianna E. Viner^{2,3}

¹Non-profit partnership International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues of Russia, 119034, Moscow, Russia, Prechistenka str. 29/14

²Oftalmic LLC, 125167 Moscow, Russia, Leningradsky Prospekt 47/3,

³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 1, Ostrovityanova St., Moscow, 117513, Russia

⁴N.I. Pirogov Clinical City Hospital #1, 8, Leninsky Prospekt, Moscow, 117049, Russia

Summary Purpose to perform clinical and genetic studies of primary chronic angle-closure glaucoma and age-related macular degeneration (AMD) for the selection of pathogenetically-oriented targeted treatment in the future. **Materials and methods.** 16 patients with isolated ocular proliferative syndrome who were divided into 2 groups: 1) a group with age-related macular degeneration (7 patients (14 eyes), 4 women, 3 men aged 55 to 83 years, according to the results of clinical and genetic examination, the diagnosis of "wet" age-related macular degeneration was confirmed. 2) a group of patients with a clinical diagnosis of primary chronic angle-closure glaucoma (8 patients, (16 eyes), 3 men, 5 women aged 45 to 80 years). The patients were monitored from 1 to 3

years. **Results.** Based on the developed algorithm of bioinformatic analysis of full-exome/full-genome sequencing data, it is possible to refine the prognosis of the course of proliferation in the aggregate of clinical and genetic data. The algorithm takes into account the analysis of the presence of mutations in the following genes involved in the process of angiogenesis: VEGF A, CFH, COL11A1. Genetic markers remain unchanged throughout life, so it is important to conduct these studies in old age, opening up the possibilities of targeted treatment. Conclusion. To be able to clarify the prognosis of the course of chronic angle-closure glaucoma and age-related macular degeneration, for the selection of individualized targeted therapy for these diseases, it is necessary to conduct a developed molecular genetic test using bioinformatic analysis of the data obtained. **Conclusion.** To be able to clarify the prognosis of the course of chronic angle-closure glaucoma and age-related macular degeneration, for the selection of individualized targeted therapy for these diseases, it is necessary to conduct a developed molecular genetic test using bioinformatic analysis of the data obtained.

Keywords: age-related macular degeneration, mutations in genes, proliferative syndrome, chronic angle-closure glaucoma.

Недостаточно контролируемая пролиферация клеток сосудистой сети и соединительной ткани органа зрения в ответ на выброс воспалительных факторов является одной из лидирующих причин слепоты в мире.

Данная статья является обобщением актуальной информации мировой литературы в совокупности с анализом собственного опыта молекулярно-генетических и клинических данных, полученных за 3 года наблюдения пациентов с «влажной» формой возрастной макулярной дегенерации (ВМД) и хронической («ползучей») закрытоугольной глаукомой (ХЗУГ) для поиска способов облегчения протекания клинической картины заболевания у пациентов и в конечном счете излечения от избыточной непродуктивной пролиферации.

Согласно Rivera J.C. et al. (2017), определение будущего фенотипа концевых клеток в эндотелиальных клетках опосредуется сосудистым эндотелиальным фактором роста (Vascular endothelial growth factor, VEGF), активируя VEGFR2/3 или лиганд DLL4 (deltalike 4) растущей вершины новообразованного сосуда [1]. От Notch лиганда Deltalike 4 (DLL4) зависит состояние ветвления сосудов. Он активирует Notch сигнальный путь в соседних клетках, подавляя DLL4 и VEGFR2/3 и индуцируя VEGFR1 [2]. Это снижает чувствительность к VEGF и стабилизирует фенотип дальнейшего ветвления сосуда. Костные морфогенетические белки-активаторы 9 и 10 (Bone Morphogenetic Protein 9/10, BMP9/BMP10) дополнительно способствуют фенотипу ветвления сосудов, в плазме крови действуют через киназный сигнальный путь анапластической лимфомы 1 (anaplastic lymphoma kinase 1, ALK1) (рис. 1) [3,4].

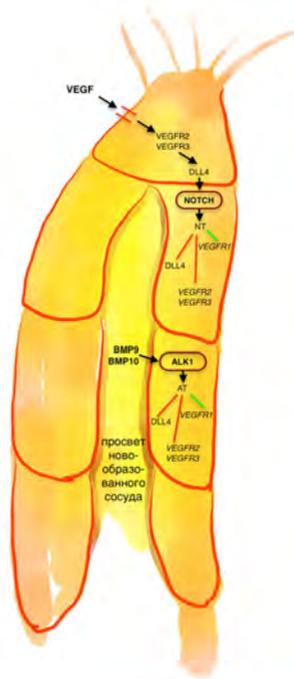


Рисунок 1. Схематическое изображение двух основных видов сигнальных путей апикальной части новообразованного сосуда, для продолжения или терминации роста сосуда[4].

Figure 1. Two main types schematic representation of the signaling pathways in the apical part of the newly formed vessel, for the continuation or termination of vessel growth [4].

Самые известные гены, мутации в которых ответственны за пролиферацию [1-4], представлены в таблице 1:

Эндотелиальная синтаза оксида азота (nitric oxide synthase, eNOS) является одним из ферментов, синтезирующихся при оксидативном стрессе (oxidative stress, OIR). Она приводит к неоваскуляризации и вазо-облитерации NO, который играет регулируемую роль в сетчатке и хориоидальном кровотоке.

Медиаторы воспаления. Имеются данные о более высоких уровнях воспалительных цитокинов в плазме при глаукоме, включая IL-6, IL-8 и TNF. Более высокие уровни в стекловидном теле воспалительных цитокинов, включая IL-6, IL-7, IL-10, IL-15, и генов, связанных с воспалением (IL1B, фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF), IL10. и др.[4].

Фактор, индуцируемый гипоксией (hypoxia-induced factor, HIF-1) играет центральную роль в кислородном гомеостазе сетчатки. Было показано, что разрушение HIF-1 приводит к уменьшению уровня VEGF, что может быть использовано в опосредованном таргетном лечении пролиферативного процесса. HIF-1 ответственен за транскрипцию генов: ANG2, VEGF, VEGFR1, тромбоцитарный фактор роста (Platelet-derived growth factor, PDGF), фактор стромальных клеток 1 (stromal cell factor 1, SDF-1), которые играют важную роль в ангиогенезе сетчатки [4, 31].

Металлопротеиназы и др. (a disintegrin and metalloproteinase domain 17, ADAM17)[29,31].

Разработанный молекулярно-генетический анализ имеет свои ограничения при применении в практическом здравоохранении.

Мутации в перечисленных генах являются патогенными. Каждый из этих белков является потенциальной терапевтической мишенью при наличии подтвержденного генетического отклонения в нем от нормы.

Таблица 1. Список некоторых генов, участвующих в пролиферативных процессах [1-4,7,8].

Table 1. List of some genes involved in proliferative processes [1-4,7,8].

Ген	Описание функции гена	
<i>ACE</i>	angiotensin I convertingenzyme	ангиотензин I превращающий фермент
<i>AGTR1</i>	angiotensin II receptortype 1	рецептор ангиотензина II типа 1
<i>BDNF</i>	brainderivedneurotrophicfactor	нейротрофический фактор мозга
<i>CETP</i>	cholesterylestertransferprotein	белок переноса эфира холестерина
<i>CFH</i>	complementfactor H	фактор комплемента H
<i>COL2A1</i>	collagen type II alpha 1 chain	альфа 1 цепь коллагена 2-го типа
<i>COL9A1/A2</i>	collagen type IX alpha 1/2 chain	альфа 1/2 цепь коллагена 9-го типа
<i>COL11A1</i>	collagen type XI alpha 1 chain	альфа 1 цепь коллагена 11-го типа
<i>EPAS1</i>	endothelial PAS domainprotein 1	эндотелиальный белок PAS домена 1
<i>HIF-1</i>	hypoxia-inducedfactor	гипоксия-индуцибельный фактор
<i>PDGF</i>	тромбоцитарный фактор роста	platelet-derivedgrowthfactor
<i>PIGF</i>	плацентарный фактор роста	placentalgrowthfactor
<i>VEGF</i>	vascularendothelialgrowthfactor	фактор роста эндотелия сосудов
<i>VCAN (CSPG2)</i>	versican	версикан

Цель работы -произвести клинично-генетические исследования первичной хронической закрытоугольной глаукомы (ХЗУГ) и возрастной макулярной дегенерации (ВМД) для подборапатогенетически-ориентированного таргетного лечения в будущем.

Материалы и методы. Были отобраны 15 пациентов с изолированным глазным пролиферативным синдромом, которые были разделены на 2 группы: 1) группа с возрастной макулярной дегенерацией (7 пациентов (14 глаз), 4 женщины, 3 мужчины в возрасте от 55 до 83 лет по результатам клинического и генетического обследования которых был подтвержден диагноз «влажной» возрастной макулярной дегенерации. 2) группа пациентов с клиническим диагнозом первичная хроническая закрытоугольная глаукома (8 пациентов, (16 глаз), 3 мужчины, 5 женщин в возрасте от 45 до 80 лет). Наблюдения за пациентами производили от 1 года до 3 лет. Применялось лабораторно-диагностическое оборудование для проведения общеклинических, биохимических анализов.

Общеклинический: осмотр терапевта, консультация генетика, сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания, возраста начала и скорости прогрессирования, физикальное обследование, измерение роста, веса, ИМТ, типа телосложения.

Клинический инструментальный: визометрия, рефрактометрия, биомикроскопия, оптическая когерентная томография, периметрия, пневмотонометрия, офтальмоскопия, ОКТ-ангиография.

Молекулярно-генетический: для секвенирования производился забор 5 мл. периферической венозной крови. Для подготовки библиотек применялись реагенты NexteraRapidCaptureExomev1.2 (Illumina). Полноэкзомное секвенирование (WES) и NGS (nextgenerationsequencing) панели, анализ ДНК пациента (сиквенс), а также секвенирование отдельных генов проводилось на секвенаторе Illumina NovaSeq 6000 методом парно-концевого чтения (2x101 п.о.) со средним покрытием не менее 70-100x. совместно с Руководителем проекта генетической диагностики oFalmic.ru, к.м.н., врачом-офтальмологом, ведущим проектным менеджером направления «Генная терапия» научно-технологического университета «Сириус» Винер (Ивановой) М.Е. при участии НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей» (Генеральный директор д.м.н. Балашова Л.М.). Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Обогащение ДНК проведено с применением зондов Agilent SureSelect Human All Exon V7 [4].

Биоинформатический анализ эксперимента insilico, аннотация вариантов выполнялись с использованием стандартных и проприетарных алгоритмов. GATK и пользовательские базы данных применялись для обнаружения как однонуклеотидных вариантов (SNV), малых вставок/делеций, так и вариаций числа копийности (CNV). Эволюционную стабильность аминокислотных остатков определяли с помощью инструмента webPRANK, CDD / SPARCLE и MOTIFSearch, а 3D-структура белка, функциональный анализ и влияние мутаций на заболевание проводились на PyMol и с помощью других инструментов. С помощью биоинформатической обработки «сырых» данных генетики пациента с использованием кастомизированного пайплайна (набора программ) переводили fastq-файлы (unaligned read format - невыровненный формат чтения) в распознаваемый VCF-файл (variant call format). Чтобы убедиться в наличии мутации применяли прямое и обратное прочтение [4,5].

Гистологический. Сагитальные срезы через область нахождения шлеммова канала, а также серийные поперечные срезы исследовали методом парафиновых срезов, окрашенных гематоксилин - эозином. Исследования проводились совместно с к.м.н., заведующим лабораторией фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней» МЗ Федоровым А.А.

Светооптическое и морфометрическое исследование окрашенных гистологических препаратов глазного яблока целиком, либо фрагменты его стенки проводили на «Фотомикроскопе -Ш» («Оптон», Германия) с помощью аппаратно-программного комплекса автоматической морфоденситометрии «ДиаМорф Объектив», компании «ДиаМорф». Фоторегистрация осуществлялась на цветную (негативную и позитивную) пленку Kodak Professional, а также на цифровую фотовидеокамеру «ДиаМорф» в составе комплекта. Плотность воспалительных клеток вычисляли в пределах стандартной сетки окуляр-микрометра при увеличении x250 для оценки степени воспалительной реакции в тканях глаза [6,9].

Статистический.

Малые выборки имеют очень широкое распространение в биомедицинских исследованиях. Поэтому мы использовали методы статистического анализа малых выборок: непараметрический метод сравнения наблюдаемых и

ожидаемых частот, основанный на построении и сравнении таблиц. Наши наблюдаемые частоты полиморфизмов не отличаются от мировых данных.

Результаты и их обсуждение. После обследования с помощью молекулярно-генетического, гистологического и клинического анализов у всех пациентов были подтверждены диагнозы: «влажная» форма ВМД с пролиферацией на глазном дне, ХЗУГ с пролиферацией в углу передней камеры. В будущем при разработке таргетной терапии пролиферативного синдрома окулистам будет доступен новый уровень лечения этих заболеваний. Как мы видим из таблицы 2, в списке этих генов есть коллагены, мутации в которых влияют на эластичность сосудов. Т.е. поиски мутаций в гене коллагена играет роль и с точки зрения патогенеза ВМД (развитие по «влажному» пути).

В группе пациентов с клиническим диагнозом «возрастная макулярная дегенерация» (7 человек) из мутаций, встречающихся в генах, ответственных за пролиферацию, наиболее частыми были полиморфизмы: полиморфизм Y402H гена фактора комплемента- CFH (англ. Complement Factor H) (4 пациента);

-460C>T (rs833061) (3 пациента) в гене VEGF-A (Vascular endothelial growth factor).

Таблица 2. Встречающиеся однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) у обследованных пациентов с ВМД из описанных в литературе [9-19].

Table 2. The polymorphisms occurring in the examined patients with AMD from those described in the literature [9-19].

ГЕН	Описание гена	ОНП
ген повышенной чувствительности к возрастной макулярной дегенерации 2 - ARMS2	Age-Related Maculopathy Susceptibility 2	rs10490924
IL-8 (интерлейкин-8)	Interleukin 8	rs4073
CFH (фактор комплемента H)	Complement Factor H	rs1329428
		rs1410996
VEGF-A(фактор роста эндотелия сосудов)	vascular endothelial growth factor	rs3025000
HTRA1 (ген сериновой протеазы)	HTRA Serine Peptidase 1	rs11200638
альфа 1 цепь коллагена 1-го типа - COL1A1	collagen type I alpha 1 chain	rs2586488

Во 2-й группе российской популяции пациентов с клиническим диагнозом “хроническая закрытоугольная глаукома” выявлены следующие полиморфизмы из известных в литературе [20-30], перечисленные в таблице 3.

Таблица 3. Встречающиеся полиморфизмы у обследованных нами пациентов с ХЗУГ из описанных в литературе [20-30].

Table 3. The polymorphisms occurring in the examined patients with HCG from those described in the literature [20-30].

ГЕН	Описание гена	ОНП	
ген повышенной чувствительности к возрастной макулярной дегенерации 2 -ARMS2	Age-RelatedMaculopathySusceptibility 2	rs10490924	
IL-8 (интерлейкин-8)	Interleukin 8	rs4073	
APEX1	apurinic/apyrimidinicendodeoxyribonuclease1	rs1130409	
альфа 1 цепь коллагена 11-го типа - COL11A1	collagen type XI alpha 1 chain	rs1676486	
		rs12138977	
		rs2126642	
		rs2622848	
		rs3753841	
альфа 1 цепь коллагена 1-го типа - COL1A1	collagen type I alpha 1 chain	rs1107946	
		rs1800012	
		rs2412298	
		rs2586488	
		rs72645331	
		rs72656352	
		rs72645365	
rs72667037	rs72654802		
		rs216489	
			rs1027617
			rs366590
			rs11024060
			rs6486330
rs11024097			
5-гидрокситриптаминový рецептор 3C - HTR3C	5-Hydroxytryptamine Receptor 3C	rs7648564	
		rs6808122	
		rs6766410	

белок, связанный с авитками мембраны -MFRP	Membrane Frizzled-Related Protein	rs2510143
		rs36015759
		rs3814762
фермент, ответственный за синтез нейромедиатора ацетилхолина-CHAT	Choline O- Acetyltransferase	rs1258267
ABCC5 (АТФ-связывающий комплексный белок –транспортер)	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 5	rs1401999

С целью изучения пролиферативного процесса в УПК при ХЗУГ были проведены морфологические исследования на 3-х энуклеированных глазах пациентов с терминальной хронической («ползучей») закрытоугольной глаукомой (ХЗУГ).

Коллагеновые волокна трабекулярной пластинки были повреждены, особенно в глазах с ХЗУГ, расположены беспорядочно. Между осью коллагеновых волокон и базальной мембраной не было четко выраженной границы, наблюдалась дезэндотелизация трабекулярной пластинки. Также была обнаружена узость трабекулярной сетки, anomalies эндотелиальных клеток (рис.2).

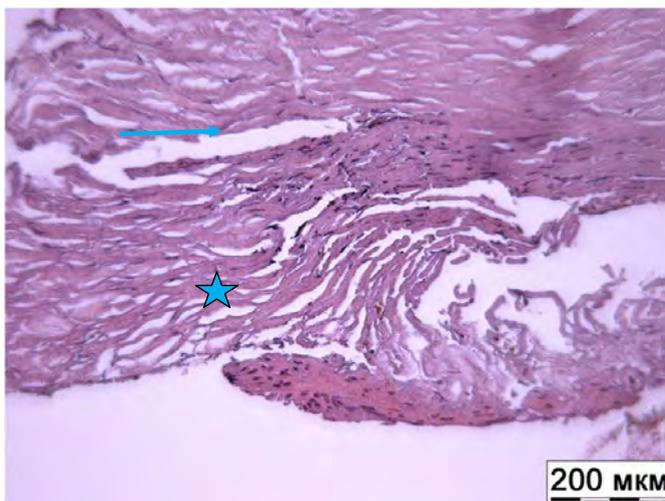


Рис.2. Остатки дезэндотелизированной трабекулярной сети (звездочка) и искусственно (рукотворно) расширенный Шлеммов канал (стрелка). Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 200

Внутри неососудов радужной оболочки обнаружены агрегаты (рис. 2, 3). Фибрин вокруг сосудов, кровоизлияния, агрегаты внутри неососудов косвенно подтверждают несостоятельность сосудистой стенки, т.е. хроническую эндотелиальную дисфункцию (ДВС-синдром).

Новообразованные сосуды в радужке (рубеоз) доказывают участие в патогенезе и активность пролиферативных процессов при ХЗУГ.

Как видно из таблицы 3, при ХЗУГ встречаются мутации в гене коллагена COL11A1, отвечающие за пролиферативные процессы. При ВМД в российской популяции нам встретились мутации в гене VEGF-A, отвечающие за пролиферацию.

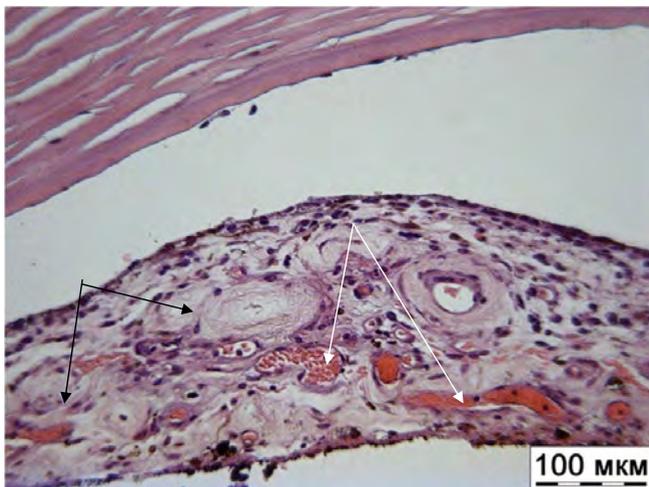


Рис.3. Радужка с неосудами, частью спавшимися (черные стрелки), частью тромбированными (белые стрелки). Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 100

Fig.3. The iris is with non-vessels, partly asleep (black arrows), partly thrombosed (white arrows). Staining with hematoxylin - eosin. Increase 100

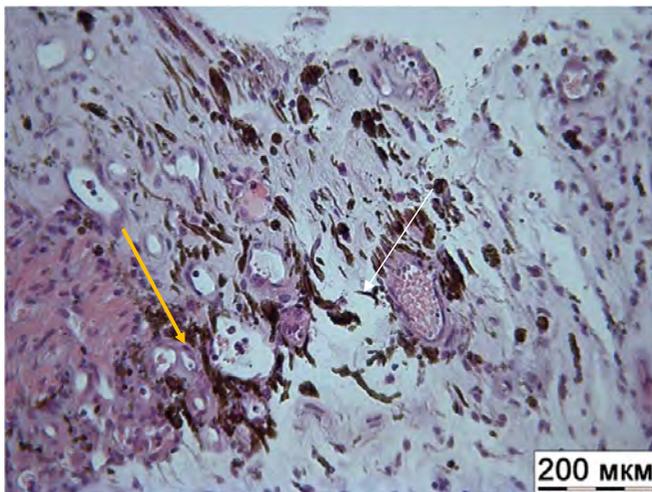


Рис. 4. Неосуды, частично запустевшие (оранжевая стрелка), частично полнокровные (белая стрелка), в пограничном слое радужной оболочки. Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 100

Fig.4. Newly formed vessels, partially neglected (orange arrow), partially full-blooded (white arrow), in the border layer of the iris. Staining with hematoxylin - eosin. Increase 100

Разработанный алгоритм биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования позволяет уточнить прогноз течения и тяжести пролиферативного процесса у пациентов с «влажной» формой ВМД и ХЗУГ в совокупности с клиническими данными. Анализ наличия мутаций в генах- VEGFA, CFH, COL11A1, которые участвуют в процессе ангиогенеза при перечисленных заболеваниях, включен в работу алгоритма.

Наше исследование имеет некоторые ограничения, в первую очередь из-за относительно небольшого размера выборки, т.к. пациенты с ХЗУГ встречаются достаточно редко и из-за дороговизны анализа полноэкзомного секвенирования. Данный молекулярно-генетический анализ проводится как разработанный лабораторией тест. Для клинициста данный анализ является помощью в точной дифференциальной диагностике форм ВМД и ХЗУГ, а именно хронической закрытоугольной глаукомы.

В будущем при разработке таргетной терапии пролиферативного синдрома блокатор пролиферативного процесса anti-VEGF терапия будет применяться в зависимости от генетических нарушений.

Выводы.

1. Для разработки таргетной патогенетической терапии пролиферативного синдрома, для профилактики развития пролиферативного синдрома у пациентов с ВМД и ХЗУГ, необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением разработанного алгоритма анализа данных.
2. Найденны мутации в генах VEGFA, CFH, COL11A1, ответственных за пролиферацию, при «влажной» форме ВМД и ХЗУГ в российской популяции.

Список литературы

1. Rivera JC, Dabouz R, Noueïhed B. et al. Ischemic Retinopathies: Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017; 7:p.16 <https://doi.org/10.1155/2017/3940241>
2. Swan R, Kim SJ., Campbell JP. et al. The genetics of retinopathy of prematurity: a model for neovascular retinal disease. *Ophthalmol Retina*. 2018;2(9):949–962. doi:10.1016/j.oret.2018.01.016.
3. Selvam S., Kumar T., Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Progress in Retinal and Eye*. 2017;11:1–4. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.11.0013.
4. Винер М.Е., Бакунина Н.А., Салмаси Ж.М. и др. Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения. *Клиническая офтальмология*. 2022;22(1):16–22. DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22.
5. Lee S., Lee S., Ouellette S., et al. NGSCheckMate: software for validating sample identity in next-generation sequencing studies within and across data types. // *Nucleic acids research*. 2017;45(11):103
6. Бакунина Н. А. Комбинированное хирургическое лечение некоторых форм рефрактерной глаукомы. Дис.... канд. мед. наук. М., 2006. — 194 с.
7. Kim S.J., Port A.D., Swan R. et al. Retinopathy of Prematurity: A Review of Risk Factors and their Clinical Significance. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(5):618–637. doi:10.1016/j.survophthal.2018.04.002.
8. Selvam S., Kumar T., Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Progress in Retinal and Eye*. 2017;11:1–4. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.11.001
9. Э.В. Бойко, С.В. Чурашов, Т.А. Камилова. Молекулярно-генетические основы ВМД // *Вестник офтальмологии*. — 2013. — Т. 129, № 2. — С. 86—90.
10. Попов, А.В. Клинико-иммунологические особенности возрастной макулярной дегенерации: Автореф. дисс. канд. мед. наук. / А.В. Попов. — М., 2015. — 22 с.
11. М.В. Будзинская, Т.В. Погода, Э.В. Генерозова [и др.]. Современные фармакогенетические подходы к лечению возрастной макулярной дегенерации // *Вестник офтальмологии*. — 2013 — Т. 129, № 5. — С. 127—135.
12. Lauer N., Mihlan M., Hartmann A., et al. Complement regulation at necrotic cell lesions is impaired by the age-related macular degeneration-associated factor-H His402 risk allele // *Journal of Immunology*. — 2011. — № 187. — P. 4374—4383. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002488>
13. Hyman, L. Risk factor for age-related macular degeneration: An update / Hyman L., Nebrosky R. // *Current Opinion in Ophthalmology* — 2002. — № 13(3). — 171—175.
14. Liutkeviciene, R. Factors determining age-related macular degeneration: a current view / Liutkeviciene R. // *Medicina (Kaunas)*. — 2010. — № 46(2). — P. 89—94.
15. Seddon J.M., George S., Rosner B., et al. CFH gene variant Y402H and smoking body mass index environmental associations with advanced age-related macular degeneration // *Human Heredity*. — 2006. — № 61. — P. 157—165. DOI: 10.1159/000094141.

16. KepezYildiz B., Ozdek S., Ergun M.A., et al. CFH Y402H and VEGF Polymorphisms and Anti-VEGF Treatment Response in Exudative Age-Related Macular Degeneration // *Ophthalmic Research*. — 2016. — № 56(3). — P. 132—138. DOI: 10.1159/000446186.
17. Yang X., Hu J., Zhang J., Guan H. Polymorphism in CFH HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese // *British Journal of Ophthalmology*. — 2010. — № 94(9). — P. 1211—1214. <http://dx.doi.org/10.1136/bjo.2009.165811>
18. Hagstrom S.A., Ying G.S., Pauer G.J., et al. Pharmacogenetics for genes associated with age-related macular degeneration in the Comparison of AMD Treatments Trials (CATT) // *Ophthalmology*. — 2013. — № 120. (3). — P. 593—599.
19. Yang X., Hu J., Zhang J., Guan H. Polymorphism in CFH HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese // *British Journal of Ophthalmology*. — 2010. — № 94(9). — P. 1211—1214. <http://dx.doi.org/10.1136/bjo.2009.165811>
20. Nongpiur M.E., Khor C.C., Jia H., et al. ABC5, a gene that influences the anterior chamber depth, is associated with primary angle closure glaucoma // *PLoS Genet*. — 2014. — № 10(3). — e1004089. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004089>.
21. M.S. Awadalla, S.S. Thapa, A.W. Hewitt, et al. Association of genetic variants with primary angle closure glaucoma in two different populations // *PLoS ONE*. — 2013. — № 8. — P. 67903. DOI: 10.1371/journal.pone.0067903.
22. C. Chung., M. Dai, J. Lin., et al. Correlation of iris collagen and in-vivo anterior segment structures in patients in different stages of chronic primary angle-closure in both eyes // *Indian J Ophthalmol*. — 2019 Oct — № 67 (10). — P. 1638—1644. DOI: 10.4103/ijo.IJO_1406_18.
23. Seet L.F., Narayanaswamy A., Finger S.N., et al. Distinct iris gene expression profiles of primary angle closure glaucoma and primary open angle glaucoma and their interaction with ocular biometric parameters // *Clinical and Experimental Ophthalmology*. — 2016. — № 44. — P. 684—692. DOI: 10.1111/ceo.12743.
24. Haer-Wigman L., van Zelst-Stams W.A., Pfundt R., et al. Diagnostic exome sequencing in 266 Dutch patients with visual impairment // *European Journal of Human Genetics*. — 2017. — № 25. — P. 591—599.
25. Y. Chen, X. Chen, L. Wang, et al. Extended association study of PLEKHA7 and COL11A1 with primary angle closure glaucoma in a hanchinese population. // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2014. — № 55. — P. 3797-3802. DOI: 10.1167/iovs.14-14370.
26. Zhong Y, Guo X, Xiao H., et al. Flat Anterior Chamber after Trabeculectomy in Secondary Angle-Closure Glaucoma with BEST1 Gene Mutation: Case Series // *PLoS ONE*. — 2017. — № 12(1). — e0169395. DOI:10.1371/journal.pone.0169395
27. Vithana E.N., Khor C.C., Qiao C., et al. Genome-wide association Analyses identify three new susceptibility loci for primary angle closure glaucoma // *Nat. Genet*. — 2012. — № 44. — P. 1142—1146. DOI: 10.1038/ng.2390.
28. Zhuang W., Wang S, Hao J., et al. Genotype-ocular biometry correlation analysis of eight primary angle closure glaucoma susceptibility loci in a cohort from Northern China // *PLoS ONE*. — 2018. — № 13(11). — e0206935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206935>
29. M.S. Awadalla, K.P. Burdon, A. Kuot, et al. Matrix metalloproteinase-9 genetic variation and primary angle closure glaucoma in a Caucasian population // *Molecular Vision*. — 2011. — № 17. — P. 1420—1424. DOI: 10.1371/journal.pone.0023609.
30. Micheal S., Yousaf S., Khan M.I., et al. Polymorphisms in matrix metalloproteinases MMP1 and MMP9 are associated with primary openangle and angle closure glaucoma in a Pakistani population // *Molecular Vision*. — 2013. — № 19. — P. 441—447.
31. Semenza, G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // *Cell*. — 2012. — № 148. — P. 399—408.

**ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОНЬЮНКТИВЫ И СКЛЕРЫ ПОСЛЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ
АПЛИКАЦИИ РАСТВОРА ЦИКЛОСПОРИНА ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO***

Жигальская Т.А., Кривошеина О.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский Государственный
Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

Аннотация. Рефрактерная глаукома является одной из самых актуальных проблем в современной офтальмологии. Стандартные методы лечения данной патологии не приводят к достижению стабильного гипотензивного эффекта. Целью настоящей работы являлось изучение особенностей регенерации конъюнктивы и склеры у животных после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина при нормальном уровне внутриглазного давления и при экспериментально индуцированной глаукоме. Согласно полученным данным, интраоперационная аппликация циклоспорина как при нормальном уровне ВГД, так и при экспериментально индуцированной глаукоме снижает выраженность воспалительно-регенераторной реакции, препятствуя рубцеванию тканей в области хирургической травмы.

Ключевые слова: циклоспорин, глаукома, рубцевание, рефрактерная глаукома.

**FEATURES OF CONJUNCTIVA AND SCLERA REGENERATION AFTER INTRAOPERATIVE APPLICATION OF
0.05% SOLUTION OF CYCLOSPORIN AT THE DIFFERENT LEVEL OF INTRAOCULAR PRESSURE IN THE *IN
VIVO* EXPERIMENT**

Zhigalskaya T.A., Krivosheina O.I.

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk

Annotation. Refractory glaucoma is one of the most actual problems of modern ophthalmology. Standard methods of treatment of this pathology do not lead to the achievement of a stable hypotensive effect. The aim of this work was to study the features of regeneration of the conjunctiva and sclera in animals after surgery with intraoperative application of 0.05% cyclosporine at a normal level of IOP and with experimentally induced glaucoma. According to received data, intraoperative application of cyclosporin, both in normal IOP and in experimentally induced glaucoma, reduces the severity of the inflammatory-reparative reaction, preventing tissue scarring in the area of surgical trauma.

Key words: cyclosporine, glaucoma, scarring, refractory glaucoma.

Актуальность. Рефрактерная глаукома считается наиболее тяжелой среди различных форм глаукомы. Данный вид патологии характеризуется постоянно прогрессирующим течением, трудно поддающимся стандартным методам лечения [1]. Отличительной чертой рефрактерной глаукомы является выраженная фибропластическая активность тканей глаза, что обуславливает, например, быстрое рубцевание и облитерацию хирургически созданных путей оттока внутриглазной жидкости.

Разработка эффективных методов лечения рефрактерной глаукомы является одной из актуальных проблем современной офтальмохирургии. В настоящее время используются различные модификации оперативного лечения данной патологии, в том числе, и с интраоперационной аппликацией цитостатических препаратов [2,3]. Применение антиметаболитов снижает пролиферативную активность тканей глазного яблока в зоне вмешательства, уменьшая рубцевание искусственно созданных путей оттока внутриглазной жидкости. Однако широкое использование цитостатиков ограничено высоким риском развития послеоперационных осложнений [4].

Цель исследования - оценить в эксперименте *in vivo* регенераторную реакцию конъюнктивы и склеры после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% раствора циклоспорина при нормальном уровне внутриглазного давления и на стероидной модели глаукомы.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено в два этапа. На I этапе эксперимента изучали патоморфологические особенности регенерации конъюнктивы и склеры после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% раствора (р-ра) циклоспорина при нормальном уровне внутриглазного давления (ВГД). Эксперимент выполнен на 48 крысах сток Wistar. В условиях операционной, с соблюдением правил асептики и антисептики, под наркозом всем животным в верхнем квадранте правого глазного яблока был проведен сквозной разрез конъюнктивы и поверхностных слоев склеры. В зависимости от дальнейшего хода операции крысы были разделены на 2

группы: основная группа (32 крысы) – животным на область хирургического вмешательства накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05% р-ром циклоспорина. В зависимости от продолжительности аппликации антиметаболита животные были разделены на 2 подгруппы: подгруппа «а» (16 крыс) - длительность аппликации составляла 3 минуты; подгруппа «б» (16 крыс) длительность аппликации составляла 6 минут; группа сравнения (16 крыс) – всем животным на область хирургического вмешательства накладывали гемостатическую губку без р-ра циклоспорина.

На 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки после операции всем животным проводили наружный осмотр, биомикроскопию, фоторегистрацию переднего отрезка прооперированного глаза. В эти же сроки из эксперимента выводили по 4 крысы из каждой подгруппы основной группы и группы сравнения. Выполняли энуклеацию оперированных глазных яблок, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Продолжительность I этапа эксперимента составила 21 сутки.

На II этапе эксперимента изучали особенности регенерации конъюнктивы и склеры после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина у животных со стероидной моделью глаукомы. Эксперимент выполнен на 29 кроликах Калифорнийской породы, которым предварительно воспроизводили стероидную модель глаукомы (12 субконъюнктивных инъекций 0,5 мл 0,4% р-ра дексаметазона 1 раз в 7 дней). Уровень внутриглазного давления (ВГД) кроликов измеряли с помощью тонометра Маклакова массой 7,5 г еженедельно. Через 2 недели после выполнения последней (12-й) субконъюнктивной инъекции кортикостероида из эксперимента было выведено 5 животных с последующей энуклеацией глазных яблок. Полученный материал фиксировали для световой микроскопии.

Дальнейшее исследование выполнено на 24 кроликах с экспериментально индуцированной глаукомой. В условиях операционной, с соблюдением правил асептики и антисептики, под наркозом всем животным в верхнем квадранте одного из глазных яблок был проведен сквозной разрез конъюнктивы и поверхностных слоев склеры. В зависимости от дальнейшего хода хирургического вмешательства животные были разделены на 2 группы: основная группа (16 кроликов) – животным на область оперативного вмешательства помещали гемостатическую губку, пропитанную 0,05% р-ром циклоспорина. В зависимости от продолжительности интраоперационной аппликации препарата все кролики были разделены на 2 подгруппы: подгруппа «а» (8 кроликов) - длительность аппликации составляла 3 минуты; подгруппа «б» (8 кроликов) длительность аппликации составляла 6 минут; группа сравнения (8 кроликов) – животным на область операционного вмешательства помещали гемостатическую губку без р-ра циклоспорина.

На 4-е, 10-е, 14-е, 21-е сутки после операции проводили наружный осмотр, биомикроскопию, фоторегистрацию переднего отрезка прооперированного глаза. Из эксперимента выводили по 2 животных из каждой подгруппы основной группы и группы сравнения. Выполняли энуклеацию глазных яблок, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Продолжительность II этапа эксперимента составила 21 сутки.

Результаты. Анализируя особенности течения воспалительно-репаративной реакции конъюнктивы и склеры в ответ на хирургическое вмешательство как с интраоперационной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина, так и без нее при различном уровне ВГД выявлен ряд особенностей.

В первые 10-ть суток после вмешательства клеточная плотность в зоне операционной травмы у животных с нормальным уровнем ВГД (без аппликации 0,05% р-ра циклоспорина) была выше, чем у животных со стероидной моделью глаукомы (в 1,8 раза $p < 0,05$). К 14-м суткам после оперативного вмешательства показатель клеточной плотности статистически значимо не отличался у животных с различным уровнем ВГД.

Численная плотность мононуклеарных лейкоцитов (МНЛ) в зоне вмешательства без аппликации р-ра цитостатика у животных с нормальным уровнем ВГД на 3-и сутки после операции в 1,4 раза превышала таковую у животных с высоким уровнем ВГД ($p < 0,05$), составляя 67% и 47% соответственно. К 7-м суткам данный показатель отличался в 2,9 раза ($p < 0,05$), к 14-м суткам - в 2,7 раза ($p < 0,05$). На 21-е сутки отличие в плотности МНЛ в зоне вмешательства без аппликации р-ра цитостатика в группах животных с нормальным и повышенным уровнем ВГД стало менее выраженным – 1,5 раза ($p < 0,05$).

Плотность фибробластов в зоне вмешательства у животных со стероидной моделью глаукомы после операции без аппликации 0,05% р-ра циклоспорина уже на 3-и сутки в 1,6 раза превышала данный показатель животных с нормальным уровнем ВГД, составляя 44% и 28% соответственно. Подобное соотношение данного показателя сохранялось у животных указанных групп, вплоть до 14-х суток. На 21-е сутки после оперативного вмешательства статистически значимой разницы

между плотностью фибробластов в зоне вмешательства без аппликации р-ра цитостатика в группах животных с нормальным и повышенным уровнем ВГД достоверно не определялось.

У животных со стероидной моделью глаукомы выраженный прирост популяции фибробластов в зоне вмешательства произошел на 10-е сутки после операции (при этом популяция фибробластов стала преобладающей как в основной группе, так и в группе сравнения), в то время как у животных с нормальным уровнем ВГД сдвиг в сторону фибробластической популяции произошел только на 14-е сутки после операции.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии более выраженной фибропластической активности в дистрофически измененных на фоне повышенного ВГД тканях глазного яблока. Следствием явилось формирование у животных со стероидной глаукомой без аппликации 0,05% р-ра циклоспорина плотного конъюнктивно-склерального сращения в зоне хирургической травмы уже на 10-е сутки после операции.

Интраоперационная аппликация антиметаболита способствовала подавлению миграции клеток в зону оперативного вмешательства как у животных с нормальным уровнем ВГД, так и со стероидной моделью глаукомы. При этом выраженность эффекта напрямую зависела от длительности аппликации циклоспорина. Так, у животных с нормальным уровнем ВГД клеточная плотность в области вмешательства на 3-и сутки после операции в подгруппе с 3-минутной аппликацией р-ра циклоспорина статистически значимо не отличалась от таковой группы сравнения. Однако при 6-минутной аппликации р-ра антиметаболита клеточная плотность в зоне вмешательства была уже в 2,8 раза ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). У животных со стероидной моделью глаукомы данный показатель отличался в 8,7 раз ($p < 0,05$). В период наблюдения с 4-х по 14-е сутки разница показателя клеточной плотности между двумя подгруппами основной группы у животных с нормальным уровнем ВГД и у животных со стероидной глаукомой была незначительна, однако сохранялась статистически значимая разница при сравнении с показателем клеточной плотности в зоне вмешательства у животных групп сравнения.

У животных с нормальным уровнем ВГД интраоперационное применение 0,05% р-ра циклоспорина оказало существенное, зависящее от длительности аппликации препарата, влияние на смену клеточных фаз воспалительно-репаративной реакции в области вмешательства с увеличением продолжительности макрофагальной фазы и подавлением миграции клеток фибробластической популяции. На 3-и сутки после операции плотность фибробластов в области операционной раны у животных подгруппы с 3-минутной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина было в 1,5 раза меньше, чем у животных группы сравнения, в то время как у животных подгруппы с 6-минутной аппликацией препарата данный показатель был меньше в 4,3 раза ($p < 0,05$).

На 7-е сутки после хирургического вмешательства численная плотность фибробластов в зоне вмешательства у животных группы сравнения увеличилась в 1,6 раза, в то время как у животных обеих подгрупп основной группы сдвиг клеточного состава в сторону фибробластической популяции произошел только на 14-е сутки после операции.

У животных со стероидной моделью глаукомы интраоперационная аппликация 0,05% р-ра циклоспорина также оказала значительное влияние на смену клеточных фаз воспалительно-регенераторной реакции в области вмешательства. На 4-е сутки после операции у животных группы сравнения, прооперированных без применения р-ра циклоспорина, плотность фибробластов в зоне вмешательства в 3,6 раза превышала таковой показатель у животных основной группы подгруппы с 3-минутной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина и в 12,8 раза - у животных с 6-минутной аппликацией препарата. На 10-е сутки после операции у животных группы сравнения выявлено значительное - в 3,0 раза - уменьшение численной плотности МНЛ в зоне вмешательства с одновременным увеличением плотности фибробластов в 1,7 раза ($p < 0,05$).

При этом у животных со стероидной моделью глаукомы основной группы подгруппы с 3-минутной аппликацией циклоспорина на фоне увеличения плотности клеток фибробластической популяции наблюдалось постепенное снижение плотности МНЛ в зоне вмешательства. В то время как у животных основной группы подгруппы с 6-минутной аппликацией 0,05% р-ра циклоспорина, несмотря на постепенный прирост популяции фибробластов, число МНЛ в области вмешательства продолжало увеличиваться. Аналогичная динамика наблюдалась до 14-х суток после операции.

Вывод. Интраоперационная аппликация 0,05% р-ра циклоспорина в ходе хирургического вмешательства на конъюнктиве и склере как в случае нормального уровня ВГД, так и при экспериментально индуцированной глаукомой существенно снижает выраженность воспалительно-репаративной реакции в зоне оперативного вмешательства, препятствуя рубцеванию тканей в области хирургической травмы.

Учитывая, что на современном этапе не существует единого подхода к хирургическому лечению рефрактерных форм глаукомы, полученные в ходе эксперимента *in vivo* результаты могут стать основой для разработки новых эффективных методов оперативного лечения данной патологии.

Список литературы.

1. Кладко М.А., Тахтаев Ю.В. Хирургия рефрактерной глаукомы: проблемы и пути решения. Точка зрения. Восток-запад. 2016; 1: 83-85.
2. Фабрикантов О.Л., Николашин С.И., Пирогова Е.С. Хирургия рефрактерной глаукомы – показания, осложнения, исходы. Медицина. 2016;21(1): 204-207.
3. Bettin P., Di Matteo F. Postoperative management of penetrating and nonpenetrating external filtering procedures. Dev Ophthalmol. 2017; 59:53-66.
4. Белоусова Н.Ю., Полтанова Т.И. Возможности применения цитостатиков в офтальмологии. Казанский медицинский журнал. 2019; 100(4): 673-679.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ СЕТЧАТКИ

Шелковникова Т.В.^{1,2}, Вавин Г.В.⁴, Капустин С.И.⁵, Кацадзе Ю.Л.⁵, Лукоянычева Е.Б.⁴, Балашова Л.М.^{1,3}, Салмаси Ж.М.³

¹НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

²ООО Медицинская клиника «Новелла», г. Кемерово, Россия

³ФГАОУ ВО Российский Национальный Исследовательский Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

⁴Кемеровская областная клиническая больница имени С.В. Беляева, г. Кемерово, Россия

⁵ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Резюме. Цель исследования: изучение мутаций и полиморфизма генов гемостаза у пациентов с сосудистой патологией сетчатки.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 150 человек (300 глаз): **1 гр.** 50 чел. с диабетической ретинопатией (ДР); **2 гр.** 50 чел. с окклюзией вен сетчатки (ОВС); **3 гр.** 50 чел. с артериальной окклюзией сосудов сетчатки (АОСС). Мужчин – 45, женщин –105, возраст от 40 до 55 лет. Длительность наблюдения от 1 нед. до 5 лет. Стандартные офтальмологические методы исследования и специальные методы исследования. Исследования системы гемостаза проводились скрининговыми и специальными методами. Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами. Молекулярно-генетическое тестирование методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (inReal-TimePCR): мутация гена F2: 20210G>A; мутация в гене F5: 1691 G>A; мутация в гене FGB: -455 G>A; полиморфизм F13A; полиморфизм в гене рецептора интегринов тромбоцитов: ITGA2: 807 C>T; ITGB3: 1565T>C; ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1): -675 5G>4G; полиморфизм фолатных генов MTHFR C677T, MTHFR1268, MMFR; полиморфизм генов ренин ангиотензин системы: ACE, ATGR1, AGT; полиморфизм гена NOS3.

Наследственная тромбофилия встречается у пациентов с диабетической ретинопатией, окклюзией вен сетчатки, артериальной окклюзией сосудов сетчатки: 81%, 65%, 75%. Сочетание мутации и полиморфизма генов гемостаза у пациентов с сосудистой патологией сетчатки оказывает влияние на маркеры повреждения эндотелия, активируя звенья системы гемостаза, что клинически проявляется локальным тромбогеморрагическим синдромом в микроциркуляторном русле сетчатки.

Ключевые слова: гемостаз, генетическая тромбофилия, венозные, артериальные окклюзии, диабетическая ретинопатия.

GENETIC THROMBOPHILIA IN PATIENTS WITH RETINAL VASCULAR DISEASE

Shelkovichnikova^{1,2} T.V., Vavin⁴ G.V., Kapustin⁵ S.I., Katsadze⁵ Y.L., Lukoyanicheva⁴ E.B., Balashova L.M.^{1,3}, Salmasi G.M.³

¹*International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia*

²*LLC Medical Clinic "Novella", Kemerovo, Russia*

³*FSBEI HE Russian National Research University named after N.I. Pirogov, Ministry of Health of Russia, Moscow*

⁴*Kemerovo Regional Clinical Hospital named after S.V. Belyaeva, Kemerovo, Russia*

⁵*The Russian Scientific and Research Institute for Hematology and Transfusiology, St. - Petersburg*

Summary. Purpose of the study: to investigate the mutations and polymorphisms of hemostasis genes in patients with retinal vascular pathology.

Materials and Methods. Case histories of 150 patients (300 eyes) were analyzed: 1 gr. 50 people with diabetic retinopathy (DR); 2 gr. 50 people with retinal vein occlusion (RVC); 3 gr. 50 people with arterial occlusion of retinal vessels (AOSS). Men - 45, women - 105, age from 40 to 55 years old. Duration of follow-up from 1 week to 5 years. Standard ophthalmological methods of investigation and special research methods. Hemostasis system was investigated by screening and special methods. Lupus anticoagulant (LA) detection was performed using poison tests, as well as confirmatory tests with donor plasma and corrective phospholipids. Molecular genetic testing by real-time polymerase chain reaction (in Real-TimePCR): mutation in the F2 gene: 20210G>A; mutation in the F5 gene: 1691 G>A; mutation in FGB gene: -455 G>A; F13A polymorphism; polymorphism in platelet integrin receptor gene: ITGA2: 807 C>T; ITGB3: 1565T>C; plasminogen activator inhibitor type I (PAI-1): -675 5G>4G; folate gene polymorphism of MTHFR C677T, MTHFR1268, MMFR; renin angiotensin system gene polymorphism: ACE, ATGR1, AGT; NOS3 gene polymorphism.

Hereditary thrombophilia is found in patients with diabetic retinopathy, retinal vein occlusion, retinal arterial occlusion: 81%, 65%, 75%. The combination of mutation and hemostasis gene polymorphism in patients with retinal vascular pathology influences endothelial damage markers, activating links of the hemostasis system that clinically manifests as local thrombohemorrhagic syndrome in the retinal microcirculatory channel.

Key words: hemostasis, hereditary thrombophilia, venous, arterial occlusions, diabetic retinopathy.

Актуальность Наследственная тромбофилия (НТ) лежит в основе тромбгеморрагического синдрома в микроциркуляторном русле сосудов сетчатки у пациентов с сосудистой патологией органа зрения и является следствием целого ряда генетически обусловленных протромботических нарушений в системе гемостаза. Важно установление молекулярных детерминант НТ, их роли в патогенезе сосудистой патологии сетчатки [1,2,3]. Патогенетической составляющей прогрессирования диабетической ретинопатии, ОВС, АОСС является дисбаланс в системе гемостаза и эндотелиальная дисфункция. В последние десятилетия особая роль отводится изучению эндогенных причин повышенного риска развития тромботических осложнений. Прежде всего, это относится к поиску факторов, формирующих у индивида генетическую предрасположенность к тромбозу. Предположения о роли наследственного компонента в патогенезе венозного тромбозомболизма (ВТ) появились в середине XX в., когда были описаны семейные случаи этого заболевания. поэтому возникшее вскоре понятие "наследственная тромбофилия" (НТ), т.е. генетически обусловленная склонность к тромбозу, долгое время использовалось исключительно в отношении эпизодов ВТ. Сегодня же стало очевидным, что предрасположенность к протромботическим сдвигам в системе гемостаза, связанная с индивидуальными особенностями функционирования различных биохимических систем организма и является неотъемлемым звеном патогенеза не только тромбозомболических заболеваний (ТЭЗ), но и целого ряда иных состояний, ассоциированных с развитием тромбоза в микроциркуляторном русле. Изучение молекулярных основ дисбаланса гемостатических реакций и возможных путей его коррекции представляется весьма перспективным направлением не только в сердечно сосудистой хирургии, неврологии и кардиологии, но и в онкологии, трансплантологии, урологии, отоларингологии, офтальмологии и других областях медицины. Тромбообразование является одной из проблем сосудистой патологии человека. Оклюзия вен сетчатки (ОВС) наиболее часто встречающееся сосудистое заболевание - 60% случаев среди острой сосудистой патологии органа зрения и занимает второе место после диабетической ретинопатии по тяжести поражения сетчатки, прогнозу. Тромбоз ретинальных вен часто предшествует таким угрожающим жизни тромбозомболическим состояниям, как острый инфаркт миокарда и инсульт головного мозга, от которых умирает 31,5 % таких пациентов в течение последующих 5-ти лет. Теория коагулопатии, в основе которой лежит дисбаланс между тромбогенными и антитромбогенными факторами, играет ведущую роль в патогенезе окклюзии вен сетчатки. В последние годы отмечается рост венозных ретинальных окклюзий, особенно среди молодой, работоспособной части населения, у которой выявляется генетическая предрасположенность к тромбозу[1].

Термин «тромбофилия» - состояние, объединяющее все наследственные (генетически обусловленные, постоянные) и приобретенные (вторичные, симптоматические, действующие в определенный промежуток времени) нарушения в системе гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбозомболий, ишемий и инфарктов органов. Одна из причин тромбофилии – наследственная резистентность к активированному протеину С, как патогенетический фактор риска возникновения венозного тромбоза. Для описания этого

дефекта был предложен термин «резистентность к активированному протеину «С»» (АРС – резистентность) или индекс РАПС. Дефектный фактор V, обозначенный как фактор VF Leiden, гораздо медленнее, чем в норме протеолитически расщепляется активированным протеином «С» (АПС). Это приводит к увеличению скорости образования тромбина, при определенных условиях, к возникновению тромбоза в любом возрасте. Развитие тромбоза ЦВС у молодых людей предполагает целесообразность исследования на генетические маркеры тромбофилии и учитывать это при назначении лечения. РАПС может быть как наследственного, связанного с FV Leiden, так и приобретенного характера за счет появления антифосфолипидных антител, а также на фоне приема контрацептивов [2].

В патогенезе ОВС могут участвовать и антитела к фосфолипидам (АФА). АФА участвуют в изменении гомеостатической регуляции свертывания крови. Механизм развития тромбоза при участии АФА (в том числе волчаночного антикоагулянта - ВА) еще не определен. Некоторые научные публикации описывают наследование по АФА. Наличие повышенных показателей АФА указывает на повреждение эндотелия. Выдвигается гипотеза относительно патологической роли ВА в регуляции системы гемостаза. Полагают, что протромботический механизм действия АФА заключается в нарушении эндогенных антикоагулянтных механизмов: снижение антитромботического потенциала сосудистой стенки и активности естественных антикоагулянтов, что и приводит к развитию гиперкоагуляции [3,4,5,6].

Распознавание типа тромбофилии и своевременная её лабораторная диагностика у пациентов с сосудистыми заболеваниями сетчатки в основе которых имеется нарушение в системе гемостаза и геморегуляции, должно способствовать оптимизации лечения и профилактики нарушений в системе гемостаза у пациентов с сосудистой патологией сетчатки. Приобретенные, наиболее частыми из которых являются прием гормональных контрацептивов, беременность, операции, иммобилизации и пр. Важная роль уделяется мутации фактора, гипергомоцистеинемии, полиморфизму гена MTHFR (МТГФР - метилентетрагидрофолатредуктаза), а также мутации протромбина G20210A. Гематогенная и аутоиммунная тромбофилия являются важным звеном в патогенезе, венозных и артериальных окклюзий сетчатки, диабетической ретинопатии, глазного пролиферативного синдрома. Среди наследственных механизмов венозных и артериальных тромбозов особое значение имеют гипергомоцистеинемия, обусловленная полиморфизмом генов фолатного цикла; мутация FV Leiden, повышенная функциональная активность тромбоцитов с полиморфизмом генов их рецепторного аппарата, наличие антифосфолипидных антител (АФА), которые являются компонентом волчаночного антикоагулянта (ВА) [7].

Ренин-ангиотензиновая система (Therenin-angiotensinsystem, RAS) связана с развитием сосудов сетчатки и патологическим ангиогенезом. Блокада RAS ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и блокаторами рецепторов ангиотензина улучшает выживаемость клеток, поэтому ингибирование RAS может быть полезным при неоваскуляризации. Мутации в генах ангиотензин-превращающего фермента (angiotensin-convertingenzyme, ACE), ангиотензиногена (angiotensinogen, AGT) и рецептора ангиотензиногена типа 1 (angiotensinogenreceptortype 1,AGTR1) могут быть причиной повышенной пролиферации, пока полные генетико-метаболические карты не составлены, однако есть основания полагать, что данные гены-мишени могут быть перспективны для прецизионной терапии. Эндотелиальная синтаза оксида азота (nitric oxide synthase, eNOS) является одним из ферментов, ингибирующихся при оксидативном стрессе (oxidative stress,OIR). Она приводит к неоваскуляризации и вазо-облитерации NO, который играет регулируемую роль в сетчатке и хориоидальном кровотоке. VEGF и связанные с ним рецепторы VEGFA. Данная модель является одной из наиболее изученных моделей пролиферации в мире. Рецепторы VEGFR2 и опосредованный с ними неоангиогенез делают эту молекулу важной мишенью для клинических исследований.

Цель исследования: исследование мутаций и полиморфизма генов у пациентов с сосудистой патологией сетчатки: ген фибриногена FGB, ген протромбина F 2, гены рецепторов интегрин тромбоцитов ITGA 2 и ITGB3, ген F5, ген PAI-1, F 13; в генах ренин-ангиотензиновой системы ACE, ATGR 1, AGT, в генах эндотелиальной дисфункции NOS3 P2Y12 ins 801A (AP) у пациентов с сосудистой патологией сетчатки.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 150 человек (300 глаз):

1 гр. 50 чел. с диабетической ретинопатией (ДР); **2 гр.** 50 чел. с окклюзией вен сетчатки (ОВС); **3 гр.** 50 чел. с артериальной окклюзией сосудов сетчатки (АОСС). Мужчин – 45, женщин –105, возраст от 40 до 55 лет. Длительность наблюдения от 1

нед. до 5 лет. Стандартные офтальмологические методы исследования и специальные методы исследования. Исследования системы гемостаза проводились скрининг и специальными методами. Молекулярно-генетическое тестирование методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (inReal-TimePCR): мутация гена F2: 20210G>A; мутация в гене F5: 1691 G>A; мутация в гене FGB: -455 G>A; полиморфизм F13A; полиморфизм в гене рецептора интегриннов тромбоцитов: ITGA2: 807 C>T; ITGB3: 1565T>C; ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1): -675 5G>4G; полиморфизм фолатных генов MTHFR C677T, MTHFR1268, MMFR; полиморфизм генов ренин ангиотензин системы: ACE, ATGR1, AGT; полиморфизм гена NOS3.

Результаты. Молекулярно-генетическое тестирование выявило НТ у пациентов с сосудистой патологией сетчатки.

1 группа. НТ в 86 % у пациентов с ДР СД-2. Мутация в гене фибриногена (FGB: -455 G>A) в сочетании с мутациями генов факторов эндотелиальной дисфункции - 40%. Мутация в гене фактора протромбина (F2: 20210G>A) в сочетании с мутацией в гене фактора F5: 1691 G>A, с полиморфизмом генов фолатного цикла и генами эндотелиальной дисфункции - 18%. Мутация в гене PAI: -675 5G>4G с генами эндотелия и фолатными генами -12%. Мутации генов факторов: ACE, ATGR1, AGT в сочетании полиморфизмом гена NOS3 и P2Y12 ins801A (AP)-12%. Полиморфизм в гене F13A в сочетании с полиморфизмом рецептора гена тромбоцитов:ITGA2: 80 C>T, с полиморфизмом в гене PAI-1: -675 5G>4G и с фолатными генами: MTHFR C677T; MTHFR 1298; MTRR (66 A>G)- 12%.

2 группа. Пациенты с ОВС и НТ в 65% случаев. Мутация F5: 1691 G>A в том числе в сочетании с ВА -15 %; F5: 1691 G>A+ ITGB3: 1565T>C+ AGT +ACE - 4% случаев. Мутация в гене фибриногена FGB: -455 G>A с полиморфизмом генов MTHFR C677T + ACE и с NOS3 - 4%. Мутация в гене FGB: -455 G>A с полиморфизмом в генах: ACE+ NOS3 с ACE, ATGR1 с полиморфизмом в гене NOS3-4%. Полиморфизм в гене PAI: -675 5G>4G в сочетании с полиморфизмом генов эндотелия и ITGA2 – 11%. Полиморфизм в гене PAI-1: -675 5G>4G с ITGB3, с ACE с ACE, с NOS3-15%. Полиморфизм в гене F13A1 в сочетании с полиморфизмом генов: MTHFR C677T с F7(10976) и F13A1 с PAI-1 -8%. Полиморфизм генов MTHFR C677T; MTHFR 1298; MTRR 66 A>G - 4%.

3группа. Генетическая тромбофилия была выявлена в75% случаев у пациентов с АОСС: мутация гена V фактора Лейдена с ВА - 17%; мутация гена F5: 1691 G>A с MTHFR C677T и с ВА-17%; C677T MTHFR –17%. Мутация Лейдена -8%; мутация в гене протромбина F2: 20210G>A в сочетании MTHFR C677T-8%; ITGA2 : 8077C>T+MTHFR-8%.

Выводы. Гены гемостаза (гена F5: 1691 G>A; гена протромбина G20210A, гена фибриногена FGB: -455 G>A;) в сочетании полиморфизм гена рецептора интегриннов тромбоцитов:ITGA2: 807 C>T; ITGB3: 1565T>C; гена PAI-1: -675 5G>4G, генов фолатного цикла MTHFR C677T; MTHFR 1298; MTRR (66 A>G) и генов эндотелиальной дисфункции имеет значение в гиперкоагуляционном синдроме, повреждении эндотелия микроциркуляторного русла сетчатки у пациентов с ДР, ОВС, АОСС). Сочетание мутации и полиморфизма генов гемостаза у пациентов с ДР, ОВС, АОСС оказывает влияние на маркеры повреждения эндотелия (fВ, VIIIф, ПС, РФМК VEGF), которые активируют плазмокоагуляционный и тромбоцитарный звенья гемостаза, что клинически проявляется тромбгеморрагическим синдромом в микроциркуляторном русле сетчатки. Распознавание типа наследственной тромбофилии и своевременная её лабораторная диагностика у пациентов с сосудистыми заболеваниями глаз, в основе которых имеются нарушение в звеньях системы гемостаза должно способствовать оптимизации лечения и профилактики сосудистой патологией сетчатки.

Список литературы.

- 1.Капустин С.И., Шмелева В.М., Сидорова В.Д. Каргин М.Н. и др. Молекулярные детерминанты наследственной тромбофилии: современное состояние и перспективы генодиагностики //Вестник гематологии.- 2011.-Т.VII, № 4.- С.84-92.
2. Шелковникова Т.В. Инновации в лабораторной диагностике и клинике окклюзий вен сетчатки// Клиническая офтальмология. 2017.- № 2. С.86-89
- 3.Шелковникова Т.В., Вавин В.Г., Тахчиди Х.П., Кацадзе Ю.Л. и др. Лабораторная и клиническая диагностика тромбофилии у пациентов с диабетической ретинопатией//Вестник гематологии.- 2013.- Т. IX, № 4.- С.33-34.

4. Тульцева, С.Н., Астахов Ю.С. Окклюзии вен сетчатки (этиология, патогенез, диагностика, лечение) // СПб. изд-во Н-Л, 2010.
5. Шелковникова Т.В., Балашова Л.М., Капустин С.И., Вавин Г.В., Баркова Н.Ю., Синегубов В.А. Тромбофилия у пациентов с диабетической ретинопатией // Материалы I Российского форума «Пролиферативный синдром в биологии и медицине» с международным участием : сб. научных тр. - Москва, 2020. - с. 61-67.
6. Шелковникова Т. В., Вавин Г.В., Лукоянычева Е.В., Бессонов Ю.П. Генетическая тромбофилия у пациентов с сосудистой патологией //Сборник материалов XIII Республиканской конференции «Актуальные вопросы офтальмологии в условиях COVID-19» с международным участием: сб. научных тр. под общ. ред. Т.А. Имшенецкой – Минск, 2020. - с. 66-67.
7. Шмелева В.М. Роль гипергомоцистеинемии в формировании протромботических нарушений системы гемостаза // Автореферат дисс. на соискание д.м.н.- СП.2010- 43 с.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА Д VDR2A>G У ЖЕНЩИН С ПРОЛАПСОМ ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ: ИССЛЕДОВАНИЕ «СЛУЧАЙ - КОНТРОЛЬ»

Бортник Е.А.^{1,2}, Миляева Н.М.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

²МАУ ГКБ№14, г. Екатеринбург

Резюме.

Цель исследования – провести анализ клинико-анамнестических данных, оценку потенциальной связи генотипов и аллелей полиморфизма 2A>G гена VDR(Met1Thr) с риском формирования пролапса тазовых органов (ПТО) у женщин. **Материалы и методы.** В проспективноекогортное исследование «случай-контроль» включены 70 пациенток, в том числе основную группу 1 составили пациентки с наличием ПТО (n=38, «случай»), группу сравнения (группа 2) - пациентки с отсутствием клиники ПТО (n=32, «контроль»). Полиморфные варианты гена рецепторов витамина Д определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. **Результаты исследования.** Установлена частота носительства аллелей и генотипов полиморфизмов 2A>G гена VDR(Met1Thr) у пациенток с ПТО и у здоровых женщин. При обследовании установлено соответствие частоты регистрации генотипов полиморфизмов 2A>G гена VDR(Met1Thr) закону Hardy-Weinberg ($p>0.05$). Обнаружены отклонения от равновесия распределения ($p<0.05$) и определены значимые различия в распределении генотипов VDR ($p=0.04$) у пациенток с ПТО и у здоровых женщин. Установлено, что риск развития ПТО ассоциирован с наличием гомозиготных (дикого и мутантного) генотипов AA (OR 1,67; 95% CI 5,47-0,51) и GG (OR=2,36; 95% CI 5% 5,01-1,11; $p=0.04$), в то время как гетерозиготный вариант AG гена VDR(Met1Thr) играет протективную роль в векторе развития ПТО у женщин.

Заключение. Выявлены эпигенетические и молекулярно-генетические факторы риска на формирование ПТО у женщин - влияниехарактера профессии (преимущественно связанной с физическим трудом), ожирения III степени и полиморфизма 2A>G (Met1Thr) гена VDR. Однако обнаруженные ассоциации требуют дальнейшего подтверждения на выборке большего масштаба.

Ключевые слова: пролапс тазовых органов, ген рецептора витамина Д, генетические полиморфизмы, женщина

Polymorphism of the vitamin D receptor gene VDR 2A>G with pelvic organ prolapse in women: case-control study

Ye.A. Bortnik, N.M. Milyaeva

"URAL STATE MEDICAL UNIVERSITY" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Summary.

The aim of the study was to analyze clinical and anamnestic data, assess the potential association of polymorphism 2A>G of the VDR (Met1Thr) gene with the risk of pelvic organ prolapse (PTO) in women. **Materials and methods.** The prospective cohort study "case-control" included 70 patients, including the main group 1 consisted of patients with the presence of PT (n=38, "case"), the comparison group (group 2) - patients with the absence of a PT clinic (n=32, "control"). Polymorphic variants of the vitamin D receptor gene were determined by polymerase chain reaction (PCR) in real time. **The results of the study.** The frequency of carriage of alleles and genotypes of polymorphisms 2A>G of the VDR (Met1Thr) gene in patients with PT and in healthy women was established. During the examination, the frequency of registration of genotypes of polymorphisms 2A>G of the VDR (Met1Thr) gene corresponded to the Hardy-Weinberg law ($p>0.05$). Deviations from the distribution equilibrium ($p<0.05$) were found and significant differences in the distribution of VDR genotypes ($p=0.04$) were determined in patients with PT and in healthy women. It was found that the risk of developing PT is associated with the presence of homozygous (wild and mutant) genotypes AA (OR 1.67; 95% CI 5.47-0.51) and GG (OR=2.36; 95% CI 5% 5.01-1.11; $p=0.04$), while the heterozygous variant of the AG gene VDR (Met1Thr) plays a protective role in the vector of development of PT in women. Conclusion. Epigenetic and molecular genetic risk factors were identified for the formation of PT in women - the influence of the nature of the profession (mainly related to physical labor), grade III obesity and polymorphism 2A>G (Met1Thr) of the VDR gene. However, the associations found require further confirmation on a larger sample.

Key words: pelvic organ prolapse, vitamin D receptor gene, genetic polymorphisms, female

Пролапс тазовых органов у женщин – прогрессирующее системное заболевание, характеризующееся изменением анатомического местоположения органов через влагалище, нарушением физиологии и функции тазовых органов, приводящих к снижению восприятия уровня персонального благополучия – физического, психологического, сексуального, социального, экономического. Пролапс тазовых органов (ПТО) определяется как мультифакторное заболевание с синдромальным характером, различным временем манифестации патологии, определенным генетическим вкладом в реализацию и прогрессирование патологии [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]. По данным ряда авторов в структуре гинекологической патологии ПТО занимает до 28% больных с прогрессом частоты заболевания до 39% у пациенток после 40 лет. Однако в мировой практике отсутствует истинность в статистике ПТО, поскольку пациентки с легкой степенью заболевания редко обращаются за медицинской помощью, а также отсутствует должная диспансеризация опущения и выпадения женских половых органов [2, 8, 9, 10]. Омоложение формирования данной патологии, значительное ухудшение качества жизни пациенток в связи с нарушением функции тазовых органов, медленное прогрессирование заболевания и позднее обращение больных за медицинской помощью. Именно с этими последствиями развития ПТО у женщин связывают значительные медико-социальные проблемы современного общества [9]. На протяжении истории изучения этиологии и патогенеза ПТО единого мнения и по сей день не достигнуто. Ни одна из описанных теорий, предложенных на основании результатов фундаментальных исследований, не объясняет в полной мере причины формирования ПТО, рецидивов заболевания после хирургического лечения, а порой даже противоречат друг другу [2, 3, 4, 8, 9, 10, 11]. С этих позиций дальнейшее изучение механизмов формирования ПТО для возможности прогнозирования и персонализированной профилактики прогресса патологии является актуальным и современным.

Цель исследования – провести анализ клиничко-anamnestических данных, оценку потенциальной связи генотипов и аллелей полиморфизма 2A>G гена VDR(Met1 Thr) с риском формирования пролапса тазовых органов (ПТО) у женщин.

Материалы и методы. В проспективное когортное исследование «случай-контроль» для выявления факторов риска ПТО проводилось на кафедре акушерства и гинекологии, трансфизиологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (ректор – д.м.н., профессор, академик РАН Ковтун О.П.), гинекологического отделения и женской консультации ГБУЗ СО «ГКБ№14», молекулярно-генетические исследования выполнялись в лаборатории ГАУЗ СО «Клиничко-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», г. Екатеринбург (главный врач Николаева Е.Б.). В исследование «случай-контроль» включены 70 пациенток, в том числе основную группу 1 составили пациентки с наличием ПТО (n=38, «случай»), группу сравнения (группа 2) – пациентки с отсутствием клиники ПТО (n=32, «контроль»). Полиморфные варианты гена рецепторов витамина D определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. У всех женщин до начала исследования было получено информированное согласие на использование биологического материала в соответствии с положениями 59 (Seoul, Republic of Korea, 2008г.) и 64 (Fortaleza, Brazil, 2013г.) пересмотрев Хельсинкской декларации, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией. Так же у всех пациенток было получено информированное согласие на использование персональных данных. Критериями включения обследованного контингента явились: верифицированный диагноз НМТД III степени; возраст 45-74; паритет - >1 родов; отсутствие тяжелой соматической (инфаркт, эпилепсия, онкологические заболевания, гипертоническая болезнь II-III стадии), эндокринной (сахарный диабет, аутоиммунный заболевания с высокой дозой гормонов), инфекционной (ВИЧ, СПИД) патологии; отсутствие доброкачественных опухолей матки, придатков; эндометриоз; пороков развития матки; наличие письменного добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения явились: отсутствие ПТО на момент исследования и в анамнезе (основная группа); выявление онкологической патологии гениталий в процессе исследования; отсутствие родов в анамнезе; наличие патологии, являющейся маркером ДСТ дифференцированной; наличие психической патологии; наличие ургентной хирургической патологии, острой декомпенсации соматических заболеваний; отказ от участия в исследовании; нарушение функции тазовых органов, связанного с другой патологией. Всем женщинам в период исследования проводились общие клинические исследования, степень НМТД определяли в соответствии с классификацией POP-Q (от англ. Pelvic Organ Prolapse Quantification — стандартизированная классификация пролапса гениталий, предложенной Международным обществом по удержанию мочи в 1996 г.). Для определения генетических полиморфизмов исследуемого гена 2A>G гена VDR rs 10735810 (объединен с rs 2228570) использовалась периферическая кровь женщин, отобранная натощак с антикоагулянтной натриевой солью этилендиаминтетраацетат (ЭДТА). Выделение ДНК из цельной крови проводили с помощью набора реагентов «MagNAPure LC DNA Isolation Kit 1» («Roche Diagnostics GmbH», Германия) на

автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот «MagNAPure LC 2.0» (Швейцария). Полиморфные варианты генов определяли наборами реагентов «SNP-Скрин» ("Синтол", Москва) на амплификаторе с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени LightCycler (Roche, США). В каждом наборе реагентов используется пара конкурирующих аллель-специфичных зондов, позволяющих различно детектировать оба аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции. Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл. Амплификация ДНК-продукта проводилась с помощью термоциклера в следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 95 °С; затем 40 циклов, включающих денатурацию при 95 °С – 15 с, отжиг праймеров и последующую элонгацию при 63 °С – 40 с (каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующих интервалам флуоресценции флуорофоров FAM и HEX). Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с помощью программ STATISTICA for Windows 10.0 (StatSoft, Inc.), статистического пакета SPSS-22, средствами стандартного статистического пакета «Microsoft Excel» (2010). Проверка соответствия распределения совокупности количественных признаков закону нормального распределения проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Частотный анализ номинальных (качественных) признаков проводили с помощью таблиц сопряженности с оценкой значимости по критерию хи-квадрат (χ^2 Пирсона). Для бинарных признаков вычисляли отношение шансов (oddsratio, OR) и 95% - доверительный интервал (CI-95%). Критический уровень значимости различий (p), при котором нулевая гипотеза об отсутствии различий отвергалась и принималась альтернативная устанавливали равным $p < 0,05$. Тест на соответствие распределения генотипов закону равновесия Харди-Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 ($p > 0,05$) [Rodryguezetal., 2009]. Уровень значимости менее 0,05 свидетельствовал об отклонениях от этого закона. Для анализа межгенных взаимодействий использовали биоинформатический метод сокращения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR).

Результаты исследования.

Средний возраст пациенток составил в основной группе 54,25±5,31, в группе сравнения 55,48±4,40, таким образом, не было выявлено существенных межгрупповых различий ($p > 0,05$). По соматическому статусу исследуемые группы пациенток также были сопоставимы, согласно критериям включения в исследование, отсутствовала тяжелая соматическая патология. Особого внимания заслуживала эндокринная патология, в частности ожирение, представляющее одну из самых тревожных современных проблем среди всех возрастов [8, 9, 10]. Пациентки основной группы имели индекс массы тела (ИМТ, кг/м²) 18,5-24,99 у 2 (5,3%); 25-29,99 у 22 (57,9%); 30-34,99 – у 12 (31,6%); 35-39,99 у 2 (5,3%). В группе сравнения картина кардинально менялась – ИМТ 18,5-24,99 у 8 (25,0%), $p < 0,05$; 25-29,99 у 17 (53,1%); 30-34,99 – у 6 (18,8%), $p < 0,05$; 35-39,99 у 1 (3,1%). При анализе паритета пациенток обеих групп достоверных межгрупповых различий выявлено не было. При анализе социального положения пациенток определено, что достоверно чаще встречались рабочие профессии с присущим им физическим трудом в основной группе - 18 (47,4%); в группе сравнения чаще встречались служащие - 20 (62,5%), для их труда характерно было статическое положение. При анализе структуры наблюдений по характеру акушерской родовой травмы было выявлено, что для основной группы характерно наличие эпизиотомии 11(28,9%) случаев и перинеотомии 3(7,9%) случаев в анамнезе, при этом отличия были достоверными по сравнению со здоровыми пациентками ($p < 0,05$). В группе сравнения достоверно чаще встречались разрывы промежности I степени (МКБ – O70.0) у 13(43,3%) против 1(3,1%) основной группы ($p < 0,05$).

На современном этапе во всем мире широко обсуждаются вопросы влияния молекулярно-генетических факторов на формирование ПТО у женщин, единого мнения пока не достигнуто, научные исследования активно продолжают в этом направлении для выделения этиологических персонифицированных механизмов пролапса гениталий [13, 14, 15, 16, 17]. В настоящее время особенно широкое распространение заслужила теория системной дисплазии соединительной ткани как ведущей причины ПТО [2, 14, 15, 16, 18, 19, 20]. Имеются единичные исследования о роли полиморфизма гена рецептора витамина DVDR 2A>G в формировании НМТД с ПТО у женщин [15,21]. На протяжении последних десятилетий активно изучается роль гена, кодирующего рецептор витамина D (VDR). VDR являясь медиатором действия 1,25(OH)2D3 путем модуляции транскрипции генов-мишеней, был позиционирован как один из генов-кандидатов генетического контроля поддержания достаточной костной массы с развитием рахита, остеомаляции и остеопороза у взрослых, миалгии, арталгии, фибромиалгическим синдромом [18, 22]. Однако, рецептор витамина D обнаружен во многих тканях и органах, включая кожу, гипофиз, клетках нервной системы, жировой ткани, легких, поджелудочной железе, органы мочеполовой системы, эндокринной системы, а также в культуре клеточных линий скелетно-мышечной системы. Результаты современных научных

исследований демонстрируют, что недостаточность витамина Д оказывает влияние на нарушения иммунной системы, развитие аутоиммунных состояний, сахарного диабета, онкологических заболеваний, инфекций, неоднозначны результаты его участия в формировании рассеянного склероза [22, 23]. Следовательно, биологическое действие 1,25(OH)2D3 выходит за рамки гомеостаза кальция и фосфора и играет ключевую роль в клеточной пролиферации и дифференцировке. Действие витамина Д, опосредованное через VDR на различные клетки, остается на современном этапе еще полностью неизученными [18,22]. Рецептор витамина D (VDR) является членом надсемейства ядерных рецепторов транскрипционных регуляторов и посредником разнообразных биологических эффектов не только кальцитриола (1,25 (OH)2D3), но и его аналогов. Ген *VDR* расположен на коротком плече 12 хромосомы, имеет размер 75 Кб и содержит 11 экзонов. Некодирующая область находится на 5-конце гена и включает экзоны 1А, 1В и 1С. Последующие 8 экзонов кодируют структурную часть белкового продукта гена *VDR*. В гене *VDR* описано значительное количество аллельных вариантов, однако наиболее функционально значимыми являются 4 полиморфных сайта в позиции соответствующих точкам узнавания эндонуклеаз: BsmI, TaqI, FokI [22, 24]. Экспрессия *VDR* коррелирует с экспрессией провоспалительных цитокинов и регулируется мРНК, последние участвуют в регуляции действий, синтеза и метаболизма витамина Д и сами могут быть подвержены влиянию сигналов *VDR* под действием механизмов динамической обратной связи, способствующей дестабилизации мРНК. Необходимо отметить важную роль мРНК в организации регуляторной системы, контролирующей пролиферацию, дифференцировку, функционирование, апоптоз тканей. Следовательно, исходя из знаний современных теорий патогенеза формирования ПТО у женщин, исследования ассоциации носительства полиморфизмов 2А>G гена *VDR*(Met1Thr) с формированием пролапса гениталий у женщин нам представляется современным и абсолютным.

Нами установлена частота носительства аллелей и генотипов полиморфизмов 2А>G гена *VDR*(Met1Thr) у пациенток с ПТО и у здоровых женщин. При обследовании установлено соответствие частоты регистрации генотипов полиморфизмов 2А>G гена *VDR*(Met1Thr) закону Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Обнаружены отклонения от равновесия распределения ($p < 0,05$) и определены значимые различия в распределении генотипов *VDR* ($p = 0,04$) у пациенток с ПТО и у здоровых женщин. Установлено, что риск развития ПТО ассоциирован с наличием гомозиготных (дикого и мутантного) генотипов AA (OR 1,67; 95% CI 5,47-0,51) и GG (OR=2,36; 95% CI 5% 5,01-1,11; $p = 0,04$), в то время как гетерозиготный вариант AG гена *VDR*(Met1Thr) играет протективную роль в векторе развития ПТО у женщин.

Таким образом, полученные данные молекулярно-генетического исследования могут быть использованы для выявления риска развития ПТО у женщин и повышения эффективности лечебных и профилактических мероприятий. Результаты исследования предоставили возможность выделить полиморфизм 2А>G(Met1Thr) гена *VDR* как предиктор риска формирования пролапса тазовых органов у женщин.

Заключение.

Нами установлены эпигенетические и молекулярно-генетические ассоциации с формированием ПТО у женщин - влиянии характера профессии (преимущественно связанной с физическим трудом), ожирения III степени и полиморфизма 2А>G (Met1Thr) гена *VDR*. Однако обнаруженные ассоциации требуют дальнейшего подтверждения на выборке большего масштаба. Научный интерес к изучению и выделению молекулярно-генетических рисков патологии человека является основой предиктивной медицины, дает возможность прогнозировать развитие ряда заболеваний, характер их течения и риск возможных осложнений.

Список литературы.

1. Аполихина И. А., Дикке Г. Б., Бычкова А. Е. Консервативное лечение пролапса гениталий. Акушерство гинекология. 2019; 6:22-4. Apolikhina I. A., Dikke G. B., Bychkova A. E. Conservative treatment of genital prolapse. Obstetrics and Gynecology, 2019, 6:22-4, (in Russian).
2. Смольнова Т. Ю., Чупрыкин В. Д. Проплапс гениталий: взгляд на проблему. Акушерство гинекология. 2018; 10:33-40. Smolnova T. Yu., Chuprykin V. D. Genital prolapse: a look at the problem. Obstetrics and gynecology. 2018; 10:33-40, (in Russian).
3. Гвоздев М. Ю., Тупикина Н. В., Касян Г. Р. Проплапс тазовых органов. Методические рекомендации № 3. Департамент здравоохранения города Москвы; 2016. Gvozdev M. Yu., Tupikina N. V., Kasyan G. R. Pelvicorganprolapse. Methodological Recommendations No. 3. Moscow Department of Health; 2016, (in Russian).

4. Радзинский В. Е., ред. Нехирургический дизайн промежности. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2017. Radzinsky V.E. Nonsurgical perineal design. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. (in Russian).
5. Выпадение женских половых органов. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2021. Femalegenitalprolapse. Clinical guidelines. Ministry of Health of the Russian Federation; 2021. (in Russian).
6. Буянова С. Н., Шукина Н.А., Зубова Е.С. и др. Пропалс гениталий. Российский вестник акушера-гинеколога. 2017; 1:37–45. Buyanova S. N., Shchukina N. A., Zubova E. S. and others. Prolapse genital. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2017; 1: 37-45. (in Russian).
7. Кулаков В. И., Манухина И.Б., Савельева Г.М.. Гинекология: Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2007. Kulakov V., Manukhina I. B., G. M. Savelyeva Gynecology: National Leadership. Moskow: GEOTAR-Media; 2007. (in Russian).
8. Малхасян В. А., Абрамян К.Н. Эпидемиология, патогенез и факторы риска пролапса гениталий у женщин: обзор зарубежной литературы. Pacific. Med. J., 2010, 1: 9–13. Malkhasyan V. A., Abrahamyan K. N. Epidemiology, pathogenesis and risk factors for genital prolapse in women: review of foreign literature Pacific. Med. J., 2010, 1: 9-13. (in Russian).
9. Радзинский В. Е. Перинеология: Болезни женской промежности в акушерско-гинекологических, сексологических, урологических, проктологических аспектах. Москва: Медицинскоеинформационноеагентство; 2006. Radzinsky V.E. Perineology: Diseases of the female perineum in obstetric-gynecological, sexological, urological, proctological aspects/V.E. Radzinsky. Moskow: Medical information agency; 2006. (in Russian).
10. Altman D., Milsom I., Cartwright R. et al. Epidemiology of urinary incontinence and other lower urinary tract symptoms, pelvic organ prolapse and anal incontinence Incontinence 5th International Consultation on Incontinence. Paris: Healt Publication Ltd, 2013; 15–107.
11. Chung C.P., Cao S., Wakabayashi G., Han E.S. Management of pelvic floor disorder in a diethylstilbestrol daughter. Proc (BayUnivMedCent). 2017; 30 (3): 291–2.
12. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., Носенко Е.Н., Силантьева Е.С., Кампос Е.С. Взгляд на патогенетические механизмы формирования пролапса тазовых органов. Трудныйпациент. 2018; 1- 2: 9-15. Orazov MR, Radzinsky VE, Khamoshina MB, Nosenko EN, Silantieva ES, Campos ES. View on the pathogenetic mechanisms of pelvic organ prolapse formation. Difficultpatient. 2018; 1- 2: 9-15. (inRussian).
13. Камоева С. В., Савченко Т. Н., Иванова А. В., Абаева Х. А. Современные генетические аспекты пролапса тазовых органов у женщин. Акушерство, гинекология, репродукция. 2013; 13(1): 17–21. Kamoeva S.V., Savchenko T.N., Ivanova A.V., AbaevaKh. A. Modern genetic aspects of pelvic organ prolapse in women Obstetrics, gynecology, reproduction. 2013; 13(1): 17-21. (inRussian).
14. Мехтиева З.Р., Яшук А.Г., Зайнуллина Р.М., Мусин И.И. Роль полиморфизма генов коллагена 1-го и 3-го типов, гена рецепторов витамина D в несостоятельности тазового дна у женщин. Практическая медицина. 2017; 7(108):1 02-5. Mehtieva ZR, Yashchuk AG, Zainullina RM, Musin II. Role of polymorphism of collagen genes of types 1 and 3, vitamin D receptor gene in pelvic floor failure in women. Practicalmedicine. 2017; 7(108): 102-5. (inRussian).
15. Яшук А.Г. Генетические аспекты развития пролапса гениталий: обзор. Российскийвестникакушера-гинеколога. 2008; 8 (4): 31-36. Yashchuk A.G. Genetic aspects of genital prolapse development: an overview. RussianBulletinofObstetrician-Gynecologist. 2008; 8 (4): 31-36. (inRussian).
16. Ханзадян М. Л., Демура Т. А. Особенности соединительной ткани связочного аппарата матки у женщин с пролапсом гениталий. Казанскиймедицинскийжурнал. 2015; 4: 498-505. Khanzadyan M. L., Demura T. A. Features of the connective tissue of the uterine ligament apparatus in women with genital prolapse. KazanMedicalJournal. 2015; 4: 498-505. (inRussian).
17. Boreham M.K., Wai C.Y., Miller R.T., Schaffer J.I., et al. Morphometric analysis of smooth muscle in the anterior vaginal wall of women with pelvic organ prolapse. Am J ObstetGynecol. 2013; 187: 56–63.
18. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины, под ред. В. С. Баранова. Санкт-Петербург: ИздательствоН-Л; 2009. Genetic passport - the basis of individual and predictive medicine edited by V. S. Baranov. St. Petersburg: Publishinghouse N-L; 2009. (inRussian).

19. Kim T., Sridharan I., Ma Y., Zhu B., et al. Identifying distinct nanoscopic features of native collagen fibrils towards early diagnosis of pelvic organ prolapse. *Nanomedicine*. 2016; 12 (3): 667–75.
20. Vulic M, Strinic T, Tomic S, et al. Difference in expression of collagen type I and matrix metalloproteinase-1 in uterosacral ligaments of women with and without pelvic organ prolapse. *Eur J ObstetGynecolReprodBiol*. 2011 Apr; 155(2): 225-8.
21. Жумина А.Г., Ходков А.В., Сакенова З.Т., Погосян Г.П. Экспрессия гена VDR и развитие лейкозов. Научное обозрение. Биологические науки. 2016; 4: 21-5. URL: <https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1008> (дата обращения: 12.07.2022). Zhumina AG, Khodkov AV, Sakenova ZT, Poghosyan GP Expression of the VDR gene and development of leukemias. Scientific review. Biological sciences. 2016; 4: 21-5. URL: <https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1008> (accessed date: 12.07.2022). (in Russian).
22. Пальшина А.М., Пальшина С.Г., Сафонова С.Л., Пальшин В.Г. На заметку клиницисту: современный взгляд на метаболизм витамина Д и полиморфизм гена рецептора витамина Д. Вестник Северо- восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия «Медицинские науки». 3(12), 2018:34-40
23. Бухалко М.А., Скрипченко Н.В., Скрипченко Е.Ю., Имянитов Е.Н. Значение полиморфизма гена рецептора витамина Д в патологии человека Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2017; 62(6):23-28.
24. Ионова Ж.И., Сергеева Е.Г., Беркович О.А. Генетические и эпигенетические факторы, регулирующие экспрессию и функционирование рецептора витамина Д у больных с ишемической болезнью сердца. Российское кардиологическое общество; 2021; 26(1S): 134-45. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4251>

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПАТОГЕНЕЗ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Бельх Н.С., Исламиди Д.К.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «УРАЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Резюме:

Введение. Актуальность изучения доброкачественных пролиферативных заболеваний матки, к которым относятся миома матки, аденомиоз и гиперпластические процессы эндометрия обусловлена высокой частотой распространенности в популяции, сочетанным течением данных заболеваний, негативным влиянием на репродуктивную функцию, а также высокой частотой оперативных вмешательств при сочетанной патологии ввиду неэффективности традиционной консервативной терапии. Коморбидность данных патологических пролиферативных процессов связана с общностью этиологии и патогенеза.

Цель исследования: Основываясь на данных научной литературы, определить общие механизмы развития доброкачественных пролиферативных процессов матки у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы: Нами был проведен поиск научной литературы. Анализ и систематизация данных проводился на основе научных публикаций в базе данных PubMed, Google Scholar, Scopus, eLibrary за период 2012-2022 гг.

Результаты и обсуждение. На основании изучения данных научной литературы определены наиболее распространенные этиопатогенетические механизмы пролиферативных заболеваний матки у женщин репродуктивного возраста, выявлено их сходство.

Заключение. Результат анализа научной литературы свидетельствует о схожести этиопатогенетических механизмов доброкачественных пролиферативных заболеваний матки. Это требует комплексного подхода в диагностике всех пролиферативных заболеваний матки и определяет сложность выбора лечебной тактики.

A modern view on the pathogenesis of benign proliferative processes of the uterus in women of reproductive age.

N.S.Belyh, D.K.Islamidi

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
"URAL STATE MEDICAL UNIVERSITY" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Introduction. The relevance of studying benign proliferative diseases of the uterus, which include uterine fibroids, adenomyosis and endometrial hyperplastic processes, is determined by the high frequency of prevalence in the population, the combined course of these diseases, the negative impact on reproductive function, especially in women of reproductive age, as well as the high frequency of surgical interventions in combined pathology due to the ineffectiveness of traditional conservative therapy. The comorbidity of these pathological proliferative processes is associated with the commonalities between etiology and pathogenesis.

The purpose of the study: To determine the general mechanisms of the development of benign proliferative processes of the uterus in women of reproductive age, based on scientific data.

Materials and methods: A search of scientific literature was conducted. The analysis and systematization of data was carried out on the basis of scientific publications in the common database PubMed, Google scholar, Scopus, eLibrary for the period 2012-2022

Results and discussion. Based on the study of scientific literature data, the most common etiopathogenetic mechanisms of proliferative diseases of the uterus in women of reproductive age have been identified, their similarity has been revealed.

Conclusion. The result of the analysis of scientific literature indicates the similarity of etiopathogenetic mechanisms of benign proliferative diseases of the uterus. This requires an integrated approach in the diagnosis of all proliferative diseases of the uterus and determines the complexity of the choice of therapeutic tactics.

Введение: Доброкачественные пролиферативные процессы матки (аденомиоз, гиперплазия эндометрия и миома матки) занимают лидирующее место в структуре гинекологических заболеваний. Среди женщин репродуктивного возраста миома матки встречается у 12–25% женщин, гиперпластические процессы эндометрия - у 10–18%, а аденомиоз - у 12–50%. У каждой третьей пациентки встречаются различные сочетания данных нозологий. По данным зарубежных авторов миома матки сочетается с аденомиозом в 80–85% случаев, в то время как гиперплазия эндометрия в 18,7–32,9% случаев. [1]. Тем не

менее синхронность возникновения данных патологий зачастую является неблагоприятным маркером, который свидетельствует об активной пролиферации, что с учетом онкологической настороженности будет определять активную хирургическую тактику.

Цель исследования: Основываясь на данных научной литературы, определить факторы риска и общие механизмы развития доброкачественных пролиферативных процессов матки у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы: в соответствии с целью исследования был проведен поиск научной литературы. Анализ и систематизация данных проводился на основе научных публикаций в базе данных PubMed, Google Scholar, Scopus, eLibrary за период 2012-2022 гг. По запросу «пролиферативные процессы матки», «миома матки», «эндометриоз», «гиперплазия эндометрия», «патогенез пролиферативных процессов матки» на русскоязычной платформе за указанный период времени было найдено 29 источников. По запросу «proliferative processes of the uterus», «endometrial hyperplasia», «endometriosis», «uterine fibroides» и «the pathogenesis of benign proliferative processes of the uterus» было найдено 35 источников. Так же для систематизации и анализа были использованы отечественные клинические рекомендации. Поиск осуществлялся по заголовку и аннотации. Для итогового научного обзора было отобрано 64 источников.

Обсуждение:

В настоящее время все больше данных научной литературы показывают неразрывную связь между пролиферативными заболеваниями матки. Зачастую это обусловлено общностью этиологических факторов и патогенетических звеньев пролиферативных заболеваний матки. Так, например, Brosens I. с соавторами предложил понятие эндометриальной дисфункции при которой гиперплазия эндометрия и аденомиоз являются единым процессом [2].

Несмотря на многообразие экзо- и эндогенных факторов традиционными факторам риска развития пролиферативных заболеваний матки остаются раннее менархе, отсутствие родов, позднее наступление первой беременности, сахарный диабет, и генетическая предрасположенность [3-4].

В последнее время все чаще обсуждается роль нарушения жирового обмена и диетические факторы риска, хотя многие из них по данным исследований оказывают разнонаправленное воздействие.

Отмечено, что при увеличении ИМТ у женщин свыше 30, в адипоцитах происходит повышенное преобразование андрогенов в эстрогены, в печени нарушается синтез глобулина связывающего половые стероиды (ГСПС), что увеличивает количество биологически доступных эстрогенов и может быть одним из ведущих механизмом роста миоматозных узлов, гиперплазии эндометрия, а также рецидива миомы матки и гиперплазии эндометрия [5-6].

За последнее время появилось множество работ о роли питания в развитии и прогрессировании пролиферативных заболеваний матки. Было показано, что некоторые физиологические и патологические процессы, например воспаление, метаболизм эстрогенов и простагландинов, хлорогеническая нагрузка, и даже менструальный цикл могут быть подвержены влиянию особенностей питания [7].

Так было показано что чрезмерное потребление соевых продуктов, некоторых пищевых добавок, например подсластителей могут увеличить риск развития миомы матки за счет стимуляции факторов роста, в том числе инсулиноподобного фактора роста и сосудистого фактора роста [1].

Соя богата фитоэстрогенами, действия которых из-за их слабого эстрогенного и антиэстрогенного влияния были связаны с повышенным риском эстрогензависимых заболеваний [8]. Действие таких фитоэстрогенов, как генистеин и пуэарин, на эндометриодные гетеротопии были испытаны на животных моделях. Авторами было показано, что они уменьшают массу и площадь поверхности эндометриотических поражений за счет ингибирования экспрессии ароматазы и эстрогенового рецептора- α (ЭРа) и снижения концентрации эстрогена [9]. Однако полученные данные требуют дальнейшего исследования.

Полученные выводы о роли овощей и фруктов, красного мяса, витаминов в целом, молочных продуктов и ненасыщенных жиров также противоречивы [10]. Тем не менее, на основании анализа полученных данных можно сделать следующие заключения: избыточное потребление молочных продуктов, красного мяса, и омега-3 жирных кислот может повысить риски развития пролиферативных заболеваний, в то время как потребление фруктов может его снизить [11]. Тем не менее ряд авторов продемонстрировали, что избыточное потребление насыщенных и животных жиров не были достоверно связаны с риском развития эндометриоза [6, 12-16].

Кроме того, зарубежные исследователи представили влияние рафинированных и цельнозерновых злаков на пролиферативные заболевания матки. Злаки оказывают влияние на гликемический индекс и гликемическую нагрузку,

изменяют скорость всасывания углеводов и, следовательно, потребность в инсулине. Было показано, что инсулин способен стимулировать пролиферацию стромальных клеток эндометрия, связываясь с его рецепторами в эндометрии. Кроме того, гиперинсулинемия может повышать концентрацию эстрогенов за счет снижения концентрации глобулина, связывающего половые гормоны, и может повышать концентрацию инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1). Как эстрогены, так и ИФР-1 стимулируют пролиферацию эндометриальных клеток [9]. Исходя из этих наблюдений, потребление клетчатки и зерновых может быть связано с риском развития эндометриоза, ГПЭ и миомы матки. Однако полученные данные требуют дальнейшего изучения.

Многочисленные исследования подтверждают особое влияние витамина D на репродуктивную систему женщин. В настоящее время является доказанной ассоциация между эндометриозом, а также уровнем эндометриоз-ассоциированной болью, повышением пожизненного риска развития миомы матки и гиперплазии эндометрия и сниженным уровнем витамина D, который обладает антипролиферативными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами [17-20].

Данные исследований за последнее десятилетие показывают, что патогенез рассматриваемых пролиферативных процессов матки (аденомиоз, гиперплазия эндометрия и миома матки) имеет общие молекулярно-генетические и эпигенетические изменения, тесно связанные с гормональными нарушениями, как на системном, так и на локальном уровне. Доказано, что эстрогены (системные и/или локальные) играют ведущую роль в патофизиологических механизмах заболеваний. В частности, одной из главенствующих теорий развития миомы матки была и остается теория гормонзависимого роста. Согласно ей, эстрогены считаются основным митогенным фактором, а роль прогестерона сложна и неоднозначна. Однако в исследованиях последних лет показано, что и он играет ключевую роль в регуляции роста миомы матки. Прогестерон взаимодействует со своими рецепторами PR-A и PR-B и приводит к повышению экспрессии факторов роста [21-23].

Установлено, что в секреторную фазу цикла экспрессия VEGF (сосудистого фактора роста) в лейомиоме определяется значительно выше по сравнению с таковой в неизменном миометрии, что подтверждает его участие в прогестерон-опосредованной стимуляции роста узлов [24]. Кроме того, имеются и различия в количестве рецепторов к гормонам внутри миоматозного узла и в окружающий клетках миометрия. В отличие от нормального миометрия миома матки содержит гораздо больше эстрогеновых рецепторов (ЭР) на единицу объема ткани [25].

На сегодняшний день эндометриоз рассматривается как хроническое эстроген-зависимое заболевание. В эндометрии у женщин с эндометриозом наблюдается повышенная экспрессия фермента ароматазы, по сравнению с эндометрием здоровых женщин. Ароматаза катализирует превращение циркулирующего андростендиона в эстрон, который под действием фермента 17бета-гидроксистероиддегидрогеназы I типа преобразуется в эстрадиол. Таким образом, способность эндометриодных очагов производить эстрадиол *in vivo* играет важную роль в распространении и имплантации эндометриодных гетеротопий [26]. Однако в отличие от миоматозных узлов эндометриодные гетеротопии не имеют прогестероновых рецепторов-B, а прогестероновые рецепторы-A экспрессируются незначительно [27]. Данный факт вероятно обуславливает различное течение миомы матки и эндометриоза во время беременности и также определяет тактику ведения данных пациенток.

Ведущее место в патогенезе ГПЭ так же отводится избыточной эстрогенной стимуляции, сочетающейся с недостаточностью прогестеронового воздействия [28]. Так в ткани эндометрия здоровых женщин экспрессия рецепторов к эстрадиолу значимо ниже, чем среди пациенток с гиперплазией эндометрия. В то же время, количество рецепторов к прогестерону в эндометрии при ГПЭ уменьшается [29]. Активно изучаются как зарубежными, так и отечественными исследователями и общие молекулярно-генетические детерминанты эндометриоза, гиперпластических процессов эндометрия, что показывает общность патогенеза пролиферативных заболеваний матки [30-34].

Перспективным направлением в изучении патогенеза доброкачественных пролиферативных заболеваний матки является поиск маркеров генетического риска среди аллельных вариантов генов ферментов метаболизма эстрогенов. Известно, что нарушения метаболизма эстрогенов, в том числе и генетически обусловленные, могут играть важную роль в стимуляции клеточной пролиферации. В литературе существуют указания на то, что однонуклеотидная замена цитозина на аденин в позиции -734 гена CYP1A2 вызывает снижение активности данного фермента. Это может приводить к замедлению скорости окисления эстрогенов до неактивных метаболитов и вызывать состояние гиперэстрогемии, что является фактором развития эстрогензависимых заболеваний [35].

В научной литературе широко обсуждается роль факторов роста в развитии пролиферативных заболеваний матки. Факторы роста — полипептиды, подобно гормонам обладают широким спектром биологического действия на многие клетки: стимулируют или ингибируют митоз, хемотаксис и дифференцировку. В отличие от гормонов, факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и оказывают эндокринное, паракринное и аутокринное действие.

В ряде исследований были выявлены следующие мутации генов, вероятно участвующих в развитии пролиферативных процессов матки. К ним относятся:

- гены кодирующие факторы роста (IGF2-инсулиноподобный фактор роста 2, способен стимулировать митоз и ингибировать апоптоз в клетках в отсутствии половых стероидов; NFGF2-фактор роста нервов, способствует ветвлению аксонов),

- гены кодирующие факторы, участвующие в синтезе внеклеточного матрикса (MMP11- Матриксные металлопротеиназы внеклеточные цинк-зависимые эндопептидазы, способные разрушать все типы белков внеклеточного матрикса и играющие роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, апоптозе, сдерживании роста опухолей),

- гены кодирующие факторы-регуляторы неоангиогенеза (TMSNB-тимозинсвязанный белок, SFRP1-секретируемый белок),

- а также гены, регулирующие процессы клеточного метаболизма и дифференцировки (CD24, HTR2B, QPRT, GAGEC1, PTK7, PEMT) [36-37].

Так процессы преобразования и распада коллагена осуществляются при участии матриксных металлопротеиназ (ММП). Эти ферменты играют решающую роль при развитии таких физиологических процессов, как морфогенез, резорбция и ремоделирование тканей, миграция, адгезия, дифференцировка и пролиферация клеток, а также при патологических состояниях. ММП синтезируются и секретируются целым рядом клеток: фибробластами, эпителиальными клетками, фагоцитами, лимфоцитами и онкогенотрансформированными клетками.

Согласно отечественным исследованиям женщин с риском развития пролиферирующей миомы матки и аденомиозом была выявлена ассоциация полиморфизма -1607dupG гена MMP1, кодирующего работу матриксных металлопротеиназ [38-39].

Важное значение для развития пролиферативных заболеваний матки имеет наследственная предрасположенность (теория генетической предрасположенности). Эндометриоз имеет полигенный способ наследования. Наследственные формы эндометриоза включают гены, кодирующие ферменты детоксикации, полиморфизм в рецепторе эстрогена и гены врожденного иммунитета [40].

Наличие «семейных» форм миомы матки, высокий риск развития лейомиомы матки у родственников первой линии родства, более частая госпитализация монозиготных близнецов по поводу миомы матки по сравнению с дизиготными близнецами также свидетельствуют о существенном вкладе генетического компонента в патогенез миомы матки [41].

В современных реалиях становится очевидным, что микробиота играет важную роль в здоровье человека. Микроорганизмы, производя биологически активные молекулы, взаимодействуют с клетками организма-хозяина, регулируют метаболизм, клеточный цикл и иммунные реакции [42-45].

Появляется все больше данных что микробиота в полости матки может потенцировать развитие пролиферативных заболеваний, путем стимуляции пролиферации и ингибирования апоптоза, созданием геномной нестабильности, потенцированием воспаления и секреции цитокинов. Однако полученные данные о вкладе микробиоты в развитии пролиферативных заболеваний матки неоднозначны и противоречивы.

В частности, как отечественными, так и зарубежными авторами, отмечено увеличение случаев гиперплазии эндометрия в сочетании с хроническим эндометритом и ассоциация их с бактериальным вагинозом и папилломавирусной инфекцией в образцах эндометрия. В патогенезе ГЭ, кроме абсолютного и относительного гиперэстрогенизма, имеет значение и воспалительный процесс, который трансформирует нормальные клетки эндометрия. Хронический эндометрит (ХЭ) изменяет рецептивность эндометрия, индуцирует резистентность к прогестерону и, тем самым, в клетках увеличивается пролиферативный потенциал на фоне ухудшения дифференцировки клеток [46-48].

В исследованиях зарубежных авторов так же подтверждена взаимосвязь между микробиотой и развитием гиперплазии эндометрия. Было показано, что у пациенток с простой гиперплазией эндометрия имеется положительная связь

с составом микробной флоры половых путей и полости матки, представленной кокковой флорой, кишечной палочкой, анаэробными организмами[49].

Согласно теории «бактериальной контаминации», предложенной японскими исследователями в полость матки выделяется бактериальный эндотоксин (липолисахарид, ЛПС) и повышается экспрессия Толл-подобного рецептора 4 (TLR4), что приводит к воспалению в эндо- и миометрии и является триггером к образованию эндометриоидных гетеротопий [50]. Однако исследования микробиоты эндометрия при эндометриозе отличны и по уровню бактериальной контаминации и видовому составу [51-52]. Тем не менее обзор 28 клинических исследований на пациентах, а также 6 исследований на животных показал, что в группе пациентов с эндометриозом выявлено широкое бактериальное разнообразие микробиоты эндометрия: чаще встречались бактерии, ассоциированные с бактериальным вагинозом при снижении доли лактобацилл. Учитывая разнообразный дизайн этих исследований однозначный вывод о влиянии микробиоты на развитие и прогрессирование эндометриоидных гетеротопий в настоящее время сделать сложно [53].

Значение микробиоты репродуктивного тракта активно обсуждается в развитии и росте миоматозных узлов. Так по данным отечественных исследований было показано, что в большинстве случаев миоматозный узел (92,8%) и его ложе (82,3%) не стерильны, а микробиота представлена анаэробами неклостридиальных форм. В ряде исследований подтверждена взаимосвязь между микробиотой в локусах «вагиалище – миоматозный узел – ложе миоматозного узла» [54-57].

Одним из широко обсуждаемых участников развития пролиферативных заболеваний матки является гипоксия клетки. Гипоксия активирует пути передачи эстрогеновых сигналов через рецепторы эстрогенов на стволовые клетки, способствует их дифференциации в клетки лейомиомы. Кроме того, гипоксия приводит к повышению экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), плацентарного фактора роста и эритропоэтина, и запускает весь цитокиновый каскад, ответственный за неоангиогенез. Кроме того, в механизмах адаптации тканей организма к состоянию гипоксии, ведущую роль играет белковый регуляторный фактор HIF-1 α (гипоксией индуцированный фактор-1 альфа). В свою очередь, HIF-1 α является мощным индуктором ангиогенеза в области опухолевого роста[58-60].

Известно, что и при ГПЭ так же имеет место гипоксическое повреждение ткани эндометрия. В ответ на гипоксию вырабатывается HIF, который регулирует вазодилатацию, гликолиз, ангиогенез и усиление оксигенации крови, что приводит к дезадаптивной реакции клеток на повреждение, усилению митозов. Проведенные исследования указывают на достоверное увеличение экспрессии HIF-1 α при гиперплазии эндометрия. Другим маркером гипоксии является лизилоксидаза (LOX) – внеклеточный медьзависимый фермент, который катализирует образование альдегидов из лизиновых остатков в коллаген и эластин. Эти альдегиды обладают высокой реакционной способностью и подвергаются спонтанным химическим реакциям с другими остатками альдегидов, производными лизилоксидазы, или с немодифицированными остатками лизина. Это приводит к сшиванию коллагена и эластина, которые необходимы для стабилизации коллагеновых фибрилл, а также нарушению целостности и эластичности зрелого эластина, роль которого описана в образовании опухолевых клеток и отражает частоту метастазирования раковых клеток. Проведенные ранее исследования показывают, что при наличии ГПЭ без атипичии и атипичической гиперплазии отмечается достоверное повышение экспрессии лизилоксидазы (LOX) по сравнению с неизмененным эндометрием. Повышение продукции и накопление лизилоксидазы (LOX) свидетельствуют о наличии гипоксии в ткани эндометрия и являются характерным признаком нарушения клеточного метаболизма в очаге воспаления. [61].

Развитие воспалительной реакции в миометрии у пациенток с эндометриозом, как благоприятный фон для имплантации и выживаемости эндометриоидных гетеротопии, связывают с оксидативным (окислительным) стрессом, определяемым как выраженный дисбаланс между активными формами кислорода (АФК) и антиоксидантами.

Оксидативный стресс, вызванный высоким уровнем свободного железа вследствие гемолиза в брюшной полости фрагментов менструальной крови с эндометриальными клетками, может приводить к воспалению и последующей активации клеток врожденного иммунитета. Избыточное образование активных форм кислорода, являющихся воспалительными медиаторами, приводит к локальному разрушению перитонеального мезотелия, что способствует адгезии и пролиферации эктопических клеток эндометрия.

Воспалительная реакция модулируется специфическим белковым фактором, который индуцируется в условиях гипоксии (HIF-1 α) и служит транскрипционным активатором и ключевым регулятором различных клеточных и системных ответов. Более 200 генов-мишеней HIF-1 α участвуют в ключевых клеточных процессах, таких как, ангиогенез, метаболизм

глюкозы и энергии, пролиферация и апоптоз клеток. В экстракционных эндометриальных очагах выявлены повышенный уровень белка HIF-1 α [62].

Бактериальный липополисахарид обладает способностью производить АФК и активировать ТОЛЛ-подобные рецепторы, повышать экспрессию HIF, стимулировать неоангиогенез, изменять процессы пролиферации и апоптоза, тем самым способствовать выживаемости эндометриальных очагов в миометрии [50].

Статистически значимое увеличение экспрессии HIF-1 α в образцах слизистой оболочки матки при сочетании ГЭ и ХЭ свидетельствует о более выраженном гипоксическом повреждении эндометрия в сравнении с таковым при изолированных ГЭ и ХЭ [63-64].

Выводы: Глубокий анализ как отечественной, так и зарубежной литературы позволил установить множественные параллели в этиопатогенетических процессах доброкачественных пролиферативных заболеваний матки. Полученные знания позволят точно диагностировать сочетанную патологию матки, составить унитарный протокол обследования и лечения пациенток с пролиферативными процессами матки, что уменьшит частоту оперативных вмешательств и несомненно улучшит качество жизни женщины.

Список литературы:

- 1) Сочетанные доброкачественные опухоли и гиперпластические процессы матки (миома, аденомиоз, гиперплазия эндометрия): Проект клинических рекомендаций по ведению больных под редакцией Л.В. Адамян.-Москва, 2015.
- 2) Brosens I, Brosens JJ, Benagiano G.: The uterine endometrium in endometriosis: are the changes of clinical significance? // *Reprod Biomed Online*. -2012.-№24.-P.496-502
- 3) Миома матки: Клинические рекомендации (D25, D26, O34.1) «Российское общество акушеров-гинекологов» (РОАГ).-Москва, 2020.
- 4) Гиперплазия эндометрия: Клинические рекомендации (N85.0, N85.1) / «Российское общество акушеров-гинекологов» (РОАГ).-Москва, 2021.
- 5) Nair S, Al-Hendy A. : Adipocytes enhance the proliferation of human leiomyoma cells via TNF- α proinflammatory cytokine. // *Reproductive Sciences*. -2011.-№8(12).-P.1186-1192.
- 6) McWilliams MM, Chennathukuzhi VM. : Recent advances in uterine fibroid etiology. // *Semin Reprod Med*. -2017.-№35(2).-P.181-189
- 7) Адамян, Л.В. Диета и эндометриоз. Обзор литературы/Л.В. Адамян, К.Н. Арсланян, О.Н. Логинова, Э.И. Харченко// *Лечащий врач*. -2020.-№3.-с30-36.
- 8) Andres S., Abraham K., Appel K. E., Lampen A.: Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer // *Crit. Rev. Toxicol*. - 2011.-№ 41.-P.463-506
- 9) Chen Y., Chen C., Shi S., Han J., Wang J., Hu J., Liu Y., Cai Z., Yu C. : Endometriotic implants regress in rat models treated with puerarin by decreasing estradiol level. // *Reprod. Sci*. -2011.-№18.-P. 886-891
- 10) Lambrinouadaki I. V., Augoulea A., Christodoulakos G. E., Economou E. V., Kaparos G., Kontoravidis A., Papadias C., Creasas G.: Measurable serum markers of oxidative stress response in women with endometriosis // *Fertil. Steril*. -2009._№91.-P. 46-50
- 11) Wise L.A., Laughlin-Tommaso S.K. : Uterine leiomyomata. In: Goldman MB, Troisi R, Rexrode KM, editors. // *Women and Health*. San Diego: Academic Press. -2013. pp. 285-306
- 12) Britton J.A., Westhoff C., Howe G., Gammon M.-D. Diet and benign ovarian tumors (United States) // *Cancer Causes Control*. -2020.-№11.P. 389-401
- 13) Missmer S.A., Chavarro J.E., Malspeis S., et al., A prospective study of dietary fat consumption and endometriosis risk. // *Hum. Reprod*. -2012.-№25.P. 1528-1535
- 14) Savaris A.L., do Amaral V.F., Nutrient intake, anthropometric data and correlations with the systemic antioxidant capacity of women with pelvic endometriosis, *Eur. J. // Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. -2011.-№ 158.-P. 314-318
- 15) Fung T. T., Schulze M. B., Hu F. B., Hankinson S. E., Holmes M. D. A dietary pattern derived to correlate with estrogens and risk of postmenopausal breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat*. -2012.-№132.-P. 1157-1162
- 16) Andersson A. M., Skakkebaek N. E. Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health // *Eur. J. Endocrinol*. -1999.-№140.-P. 477-485

- 17) Уровень витамина D у женщин с эндометриозом ассоциированной тазовой болью. М.Р. Оразов / Хамошина М. Б., Оразмурадов А. А., Кайгородова Л. А. [и др.] // Доктор.Ру.-2017. -№ 9 (138). -С. 17–20
- 18) Бахарева, И.В. Витамин D и эндометриоз: в поиске новых возможностей / И.В. Бахарева// Российский вестник акушера-гинеколога.-2018.-№ 4
- 19) Затворницкая А.В. Особенности статуса витамина D и экспрессии рецепторов к витамину D в слизистой оболочке матки у пациенток с гиперплазией эндометрия, ассоциированной с хроническим эндометритом/ А.В. Затворницкая // Вестник СМУС.-2019.-№2 (25).-С.74.
- 20) Baird DD, Hill MC, Schectman JM, Hollis BW. Vitamin d and the risk of uterine fibroids. // *Epidemiology*.-2013 May.-№24(3).-P. 447-53.
- 21) Kim JJ, Sefton EC. The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Molecular and Cellular Endocrinology*.-2011.-№358(2).-P. 223–231.
- 22) Moravek MB, Bulun SE. Endocrinology of uterine fibroids: steroid hormones, stem cells, and genetic contribution. // *Curr Opin Obstet Gynecol*.- 2015 Aug.-№ 27(4).-P. 276-83.
- 23) Роль прогестерона и тканевых факторов роста в патогенезе миомы матки /А.А. Тюрина, А.Г. Ящук, А.Г.Имельбаева, О.В.Яковлева. // ПМ.-2018.-№6.
- 24) Стрижаков А.Н.Доброкачественные заболевания матки / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов, В.М. Пашков, В.А. Лебедев.-Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014.-304с.
- 25) Шрамко, С.В. Пролиферативные заболевания матки: клинико-иммунологические и молекулярно-генетические критерии персонализации лечебной тактики.Канд.мед.наук:14.01.01.Шрамко Светлана Владимировна.-Москва, 2018.-46с.
- 26) Пономаренко И.В. Молекулярные механизмы и факторы риска развития эндометриоза / И.В. Пономаренко, Л.В. Полоников, М.И. Чурносов // Акушерство и гинекология.- 2019.-№ 3.- С. 26-31.
- 27) Ahn S.H., Monsanto S.P., Miller C., Singh S.S., Thomas R., Tayade C.// *Pathophysiology and immune dysfunction in endometriosis*. *Biomed. Res. Int*.-2015
- 28) Молекулярно-генетические механизмы развития гиперпластических процессов эндометрия/ Н.А. Демакова О.Б. Алтухова С.П. Пахомов В.С. Орлова. // Научные ведомости.Серия Медицина. Фармация. -2014.- №4 (175). Выпуск 25.
- 29) Изучение роли экспрессии генов рецепторов эстрогенов и прогестерона в возникновении пролиферативных процессов в эндометрии для решения вопроса о тактике ведения больных с указанными патологическими изменениями эндометрия. Г.М.Савельева / Бреусенко В.Г., Карева Е.Н., Ивановская Т.Н. [и др.]// Российский вестник акушера-гинеколога.-2018.-№18(6).- С.17-24.
- 30) *Rahmioglu N., Montgomery G.W., Zondervan K.T. Genetics of endometriosis.// Womens Health (bond.)*. -2015.-№11(5).-P. 577-86. <https://dx.doi.org/10.2217/whe.15.41>.
- 31) *Baranov V., Malysheva O., Yarmolinskaya M. Pathogenomics of endometriosis development.// Int. J. Mol. Sci*.-2018.-№ 19(7).
- 32) Радзинский, В.Е.Молекулярно-генетические детерминанты бесплодия при генитальном эндометриозе / В.Е. Радзинский, О.Б. Алтухова // Научные результаты биомедицинских исследований. -2018.-№ 4(3).-С. 21-30.
- 33) Matalliotakis M., Zervou M.I., Eliopoulos E., Matalliotaki C, Rahmioglu N., Kalogiannidis I. et al. The role of IL-16 gene polymorphisms in endometriosis. // *Int. J. Mol. Med*.-2018.-№41(3).-P. 1469-76.
- 34) Демакова,Н.А. Молекулярно-генетические характеристики пациенток с гиперплазией и полипами эндометрия /Н.А. Демакова// Научный результат. Медицина и фармация. -2018.-№ 4(2).-С.26-39.
- 35) Полиморфизм генов ферментов метаболизма эстрогенов у пациенток с эндометриозом / К.С. Кублинский, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, И.Г. Куценко.// Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия
- 36) Bulun, S.E. Uterine Fibroids. // *New England Journal of Medicine*.-2013.-№369.-P. 1344-1355.
- 37) Pérez-López F. R. et al. EMAS position statement: management of uterine fibroids // *Maturitas*. – 2014. – Т. 79. – №. 1. – P. 106-116.

- 38) Арутюнян, А.Ф. Генетические и доплерометрические аспекты профилактики рецидивов миомы матки, сочетанной с аденомиозом после миомэктомии/ А.В. Арутюнян, С.Н.Гайдуков, В.Е.Костюшов. //Медицинские науки.-2015.- №4.-С. 26-35.
- 39) Молекулярная характеристика миомы тела матки по экспрессии генов стероидных рецепторов, *sts*, *sult* и *pten* / С.В. Шрамко [и др.] // Молекулярная медицина.-2013.-№ 6. -С. 39-43
- 40) Sourial S., Tempst N., Napangama D.K. Theories on the pathogenesis of endometriosis. // Int. J. Reprod. Med.-2014.
- 41) Семейная предрасположенность к развитию лейомиомы матки: поиск генетических факторов, повышающих риск развития заболевания. Н.С.Согоян / Кузнецова М.В., Донников А.Е., Мишина Н.Д. [и др.]// Проблемы репродукции.-2020.-№26(5).-С.51□57. <https://doi.org/10.17116/rep20202605151>
- 42) Molina NM, Sola-Leyva A, Saez-Lara MJ, et al. New Opportunities for Endometrial Health by Modifying Uterine Microbial Composition: Present or Future?. // Biomolecules.-2020.-№10(4).-P. 593.
- 43) Marques F.Z., Mackay C.R., Kaye D.M. Beyond gut feelings: How the gut microbiota regulates blood pressure. // Nat. Rev. Cardiol.-2018.-№15.-P. 20–32.
- 44) Cerdó T., García-Valdés L., Altmäe S., Ruiz A., Suárez A., Campoy C. Role of microbiota function during early life on child's neurodevelopment. //Trends Food Sci. Technol.-2016.-№57.-P. 273–288.
- 45) Power M.L., Quagliari C., Schulkin J. Reproductive Microbiomes: A New Thread in the Microbial Network. // Reprod. Sci. -2017.-№24.-P. 1482–1492.
- 46) Sanderson, P. A. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia / P. A. Sanderson // Human Reproduction Update. — 2017. — Т. 23, № 2. — С. Human Reproduction Update
- 47) Казачков Э.А. Гиперплазия эндометрия, сочетающаяся с хроническим эндометритом: клинко морфологические особенности / Э.А. Казачков, А.В. Затворницкая, Е.Е. Воропаева // Уральский Медицинский Журнал. – 2020. – . – № 3. – С. 36-41
- 48) Ворошилина, Е.С. Возможности оценки микробиоты полости матки с использованием пцр в реальном времени / Е.С. Ворошилина, Д.Л. Зорникова, А.В. Копосова // ВЕСТНИК РГМУ. – 2020. – . – № 1. – С. 14-21
- 49) Horban NY, Vovk IB, Lysiana TO, Ponomariova IH, Zhulkevych IV. Peculiarities of Uterine Cavity Biocenosis in Patients with Different Types of Endometrial Hyperproliferative Pathology.// J MedLife. -2019.-№12(3).-P. 266-270.
- 50) Khan KN, Fujishita A, Hiraki K, Kitajima M, Nakashima M, Fushiki S, Kitawaki J. Гипотеза бактериального загрязнения: новая концепция эндометриоза. // ReprodMed Biol.-2018 Янв18.-№17(2).-С. 125-133.
- 51) Hernandez, C.; Silveira, P.; Rodrigues Sereia, A.F.; Christoff, A.P.; Mendes, H.; Valter de Oliveira, L.F.; Podgaec, S. Microbiome Profile of Deep Endometriosis Patients: Comparison of Vaginal Fluid, Endometrium and Lesion. // Diagnostics.-2020.-№10.-P. 163
- 52) Wessels JM, Domínguez MA, Leyland NA, Agarwal SK, Foster WG. Endometrial microbiota is more diverse in people with endometriosis than symptomatic controls. //Sci Rep. -2021.-№11(1).-P.18877. Published 2021 Sep 23.
- 53) Mary E Salliss, Leslie V Farland, Nichole D Mahner, Melissa M Herbst-Kralovetz, The role of gut and genital microbiota and the estrobolome in endometriosis, infertility and chronic pelvic pain.// Human Reproduction Update.-2022.-Volume 28.-Issue 1.-Pages 92–131
- 54) Микробиота влагалища и миоматозных узлов при миоме матки Е.С. Никитина / Рымашевский А.Н., Набока Ю.Л., Рымашевский М.А., [и др.]//Медицинский вестник Юга России. -2022.-№13(2).-С.50-58.
- 55) Хорольский, В.А.Рольмикробиоты ложа миомы матки в регенерации миометрия и осложнениях гестации после миомэктомии / В.А. Хорольский, В.А. Новикова. // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 4.
- 56) Микробный спектр влагалища и миоматозного узла у больных миомой матки А.Н. Рамышевский/ Рымашевский А.Н., Никитина Е.С., СвираваЭ.Г.,[и др.]. // Вестник РУДН. Сер.: Медицина. – 2012. - № 5. – С. 187-192
- 57) Рамышевский, М.А.: Профилактика осложнений хирургического лечения миомы матки при доношенной беременности.канд.мед.наук:14.01.01/Рамышевский Михаил Александрович.-Ростов-на-Дону,2020.-114с.
- 58) Uluer ET, Inan S, Ozbilgin K, Karaca F, Dicle N, Sancı M. The role of hypoxia related angiogenesis in uterine smooth muscle tumors. // Biotech Histochem. -2015.-№90:2.-P. 102-110. <https://doi.org/10.3109/10520295.2014.952339>

- 59) Yin P, Ono M, Moravek MB, Coon JS 5th, Navarro A, Monsiv- ais D, Dyson MT, Drushitz SA, Malpani SS, Serna VA, Qiang W, Chakravarti D, Kim JJ, Bulun SE. Human uterine leiomyoma stem/ progenitor cells expressing CD34 and CD49b initiate tumors in vivo. // J ClinEndocrinolMetab. -2015.-№100:4.-P.601-604
- 60) Carneiro MM. Stem cells and uterine leiomyomas: What is the evidence? //JBRA Assist Reprod. -2016.-№20:1.-P.33-37. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20160008>
- 61) Шешукова, Н.А. Гиперпластические процессы эндометрия / Н.А. Шешукова, И.О. Макаров //Гинекологическая эндокринология. -2012.-№1(14).-С.20-23.
- 62) Ванько. Л.В.Роль индуцируемого гипоксией фактора – 1 α и трансформирующего ростового фактора – β 1 в развитии оксидативного и иммунного дисбаланса при эндометриозе / Л.В.Ванько, Т.Д. Короткова, Л.В. Кречетова //Акушерство и Гинекология.-2019.- №6
- 63) Гипоксическое повреждение и неоваскуляризация эндометрия при гиперплазии слизистой оболочки матки. / Э.А. Казачкова, Е.Л.Казачков, А.В. Затворницкая, Е.Е. Воропаева // РМЖ. Мать и дитя. -2019.-№2(3).-С.232-235.
- 64) Шешуков, Н.А. Роль воспалительного фактора в опухолевой трансформации эндометрия / Н.А. Шешуков, Т.Д. Гурнев, А.С.Федотова // Гинекология. -2014.- №3.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

РАЗРАБОТКА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ.

Балашова Л.М.^{1,2}, Бакунина Н.А.^{1,2,3}

¹Некоммерческое партнерство Международный Научно-Практический Центр Проллиферации Тканей России, 119034, Москва, Россия, ул. Пречистенка 29/14

²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

³ГКБ №1 им. Н.И.Пирогова, Ленинский проспект, 8, Москва, 119049, Российская Федерация

Резюме. Цель работы: Предложение патогенетической классификации первичной закрытоугольной глаукомы (ПЗУГ) на основании морфологических и генетических исследований, проведенных ранее..

Материал и методы. Под наблюдением находилось 28 пациентов (44 глаза), прослеженных в динамике в возрасте от 40 до 65 лет с различными формами закрытоугольной и смешанной глаукомы в начальной, развитой, далекозашедшей и абсолютной стадии заболевания.

Результаты. Проведен клинико-генетический анализ ПЗУГ. Отмечено, что классификация, основанная на биометрических показателях, не учитывает генетические особенности пациентов с ПЗУГ, предрасположенность к которой заложена при рождении. При аппозиционном закрытии УПК показана профилактическая лазерная иридэктомия, тогда как при синехиальном закрытии УПК профилактическая иридэктомия может усугубить синехиогенез. **Заключение.** Врожденный характер ПЗУГ диктует необходимость использования патогенетической классификации и разработки целевых способов лечения в будущем.

Ключевые слова: первичная закрытоугольная глаукома; классификация; генетические полиморфизмы; внутриглазное давление.

PATHOGENETIC CLASSIFICATION OF PRIMARY ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA

Bakunina N.A.^{1,2,3}, Balashova L.M.^{1,2}

1. International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, 119034 Russia
2. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia
3. N.I. Pirogovcity clinical hospital №1, Leninskiyprospect, 8, Moscow, 117049, Russian Federation.

Purpose. The classification of primary angle-closure glaucoma (PSG) on the basis of genetic studies is proposed. **Methods:** There were 28 patients (44 eyes) aged 40 to 65 years with various forms of angle-closure glaucoma were examined. **Results.** Clinical and genetic analysis of patients with primary angle-closure glaucoma was carried out. It is noted that the classification based on biometric indicators does not take into account the genetic characteristics of patients with PACG, predisposition to which is inherent at birth. Indications for preventive laser iridectomy with appositional closure of the anterior chamber angle are substantiated.

Conclusion. The innate nature of PACG dictates the need for the formation of a pathogenetic classification of PACG.

Keywords: primary angle-closure glaucoma; classification; genetic polymorphisms.

Вплоть до настоящего времени нет единства в классификации первичной закрытоугольной глаукомы (ПЗУГ). Согласно Европейскому руководству (European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition – Chapter 2 (2017), первичное закрытие угла передней камеры проходит три стадии: подозрение на первичное закрытие угла (ППЗУ) – Primary angle closure suspect (PACS), первичное закрытие угла (ПЗУ) – Primary angle closure (PAC), первичная закрытоугольная глаукома (ПЗУГ) – Primary angle closure glaucoma (PACG) [1]. Сложности с классификацией вызваны ее многообразием и тем, что глаукомная оптическая нейропатия наблюдается не при всех формах ПЗУГ.

Подозрение на первичное закрытие угла (ППЗУ, аппозиционное первичное закрытие УПК, иридотрабекулярный контакт) – Iridotrabeccular contact (ITC) – глаза с наличием аппозиционного (иридотрабекулярного) контакта между периферией радужки

и задней трабекулярной сетью (два или более квадрантов), но без передних синехий, повышенного ВГД или глаукомной оптической нейропатии [1].

Первичное закрытие угла (ПЗУ, иридотрабекулярный контакт с периферическими передними синехиями) – Iridotrabecularcontactwithperipheralanterior-synechia (ITC with PAS) – глаза с иридотрабекулярным контактом и передними синехиями, может быть с повышением ВГД, но без признаков глаукомной нейропатии и изменений в полях зрения (ПЗ) [1].
Закрытие угла подразумевает, что при гониоскопии задняя пигментированная часть трабекулярной сети не просматривалась, по меньшей мере, на 180° при взгляде больного прямо согласно классификации Р. Foster **[Ошибка! Источник ссылки не найден.]**. Согласно Европейскому руководству термин «глаукома» – первичная закрытоугольная глаукома (ПЗУГ), primaryangle-closureglaucoma (PACG) – добавляется при наличии глаукомной оптической нейропатии.

Если наблюдается иридотрабекулярный контакт на протяжении 360° с режимом повышением ВГД, то ставится диагноз острого приступа глаукомы (ОПГ) – acuteangleclosureattack (AACCC), который в более спокойном варианте носит название «интермиттирующее закрытие угла» (подострый приступ глаукомы). Острый приступ глаукомы может быть по механизму зрачкового блока, при конфигурации плоской радужки, при синдроме неправильного тока внутриглазной жидкости (aqueousmisdirection) или по смешанному механизму.

Синдром неправильного тока внутриглазной жидкости (aqueousmisdirection) выявляется при очень малом размере глаз (осевая длина менее 21 мм) и большой гиперметропической рефракции (более +6 дптр.). Перемещение влаги в стекловидное тело происходит из-за соприкосновения цилиарных отростков с экватором хрусталика. Поэтому иридохрусталиковая диафрагма смещается впереди и закрывает угол передней камеры. В такой ситуации при закапывании холинотоника (пилокарпина 1%) возникает парадоксальное повышение ВГД, а после циклоплетиков ВГД снижается. Периферическая иридэктомия может не снизить ВГД в такой ситуации[1].

На основе ультразвуковой биомикроскопии механизм закрытия угла передней камеры (УПК) разделяется в соответствии с классификацией СвендаВеделяКессинга и Джона Тайгесена на зрачковый блок (ЗБ) – pupillablock (PB), плато радужной оболочки (ПР) – plateauiris (PI) и смешанный механизм. После лазерной иридэктомии глаза со зрачковым блоком были переклассифицированы в смешанный механизм. В группе с механизмом плоской радужки после иридэктомии угол почти не раскрылся [3].

Отдельно остановимся на понятии «смешанная» глаукома.

Как известно, к смешанной глаукоме относят следующие состояния [4]:

- УПК закрыт только в одном сегменте и открыт в остальных отделах;
- УПК открыт, но он очень узкий, щелевидный;
- на ранее установленную ОУГ в последующем наложилась блокада УПК корнем радужной оболочки.

При такой форме глаукомы лечебные мероприятия должны учитывать присутствие в одном глазу двух механизмов ретенции водянистой влаги.

В зарубежной литературе этот термин предлагают использовать для описания закрытия УПК из-за более чем одного механизма закрытия: когда зрачковый блок устраняется иридотомией и угол открывается в большей степени, чем до иридотомии, или аппозиционное закрытие остается из-за плато радужки, из-за факорморфической или злокачественной глаукомы после иридотомии [1,5].

К глаукоме комбинированного механизма в иностранной литературе относят: глаза с открытоугольной глаукомой, в которых может развиваться закрытие угла, либо из-за естественного развития зрачкового блока, либо из-за усиления миотической терапии. Псевдоэкзофилиативный синдром обычно предрасполагает к глаукоме комбинированного механизма. В этом случае открытоугольная глаукома может независимо спустя годы после иридотомии развиваться до закрытоугольной с прогрессирующей закупоркой трабекулярной сети [5].

Вышеперечисленные классификации носят клинический характер. Мы предлагаем акцентировать внимание на патогенетической классификации ПЗУГ и смешанной глаукомы с учетом генетической предрасположенности к ПЗУГ.

Таким образом, постоянный пересмотр и отсутствие единообразия классификации ПЗУГ демонстрирует большой научный интерес к данной теме и показывает необходимость продолжения совершенствования диагностики и тактики лечения при различных видах ПЗУГ.

Цель работы - Предложение патогенетической классификации первичной закрытоугольной глаукомы (ПЗУГ) на основании генетических исследований и ее мониторинга в отдаленные сроки.

Материалы и методы. Ретроспективно были отобраны 28 пациентов (44 глаза), прослеженных в динамике в возрасте от 40 до 65 лет с различными формами закрытоугольной глаукомы в начальной, развитой, далекозашедшей терминальной стадиях заболевания, которые были разделены на 3 группы: 1) группа пациентов с первичным закрытием угла передней камеры, которым была проведена эффективная профилактическая лазерная иридэктомия (ЛИЭ) (8 пациентов, (16 глаз), 3 мужчины, 5 женщин в возрасте от 45 до 75 лет) 2) группа пациентов с острым приступом глаукомы, которым была проведена неэффективная профилактическая ЛИЭ (12 пациентов (12 глаз), 3 мужчины, 5 женщин в возрасте от 45 до 75 лет). 3) группа пациентов с хронической закрытоугольной глаукомой (8 пациентов, 16 глаз), которым была проведена неэффективная ЛИЭ.

Срок наблюдения за пациентами составил от 5 до 15 лет.

Применялось лабораторно-диагностическое оборудование для проведения общеклинических, биохимических анализов.

Общеклинический: осмотр терапевта, консультация генетика, сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания, возраста начала и скорости прогрессирования, физикальное обследование, измерение роста, веса, ИМТ, типа телосложения.

Клинический инструментальный: визометрия, рефрактометрия, гониоскопия (при отсутствии критического отека роговицы), биомикроскопия, оптическая когерентная томография переднего и заднего отрезков глаза, периметрия, пневмотонометрия, офтальмоскопия, ОКТ-ангиография.

Молекулярно-генетический: для секвенирования производился забор 5 мл. периферической венозной крови. Для подготовок библиотек применялись реагенты Nextera Rapid Capture Exome v1.2 (Illumina). Полноэкзомное секвенирование (WES) и NGS (next generation sequencing) панели, анализ ДНК пациента (сиквенс), а также секвенирование отдельных генов проводилось на секвенаторе Illumina NovaSeq 6000 методом парно-концевого чтения (2x101 п.о.) со средним покрытием не менее 70-100x. совместно с Руководителем проекта генетической диагностики *oftalmic.ru*, к.м.н., врачом-офтальмологом, ведущим проектным менеджером направления «Генная терапия» научно-технологического университета «Сириус» Винер (Ивановой) М.Е. при участии НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей» (Генеральный директор д.м.н. Балашова Л.М.). Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Обогащение ДНК проведено с применением зондов Agilent SureSelect Human All Exon V7 сети [6].

Биоинформатический анализ и эксперимент insilico, аннотация вариантов выполнялись с использованием стандартных и проприетарных алгоритмов. С помощью биоинформатической обработки «сырых» данных генетики пациента с использованием кастомизированного пайплайна (набора программ) переводили fastq-файлы (unaligned read format - невыровненный формат чтения) в распознаваемый VCF-файл (variant call format). Чтобы убедиться в наличии мутации применяли прямое и обратное прочтение [7].

Гистологический. Сагитальные срезы через область нахождения шлеммового канала, а также серийные поперечные срезы исследовали методом парафиновых срезов, окрашенных гематоксилин - эозином. Исследования проводились совместно с к.м.н., заведующим лабораторией фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней» МЗ Федоровым А.А.

Светооптическое и морфометрическое исследование окрашенных гистологических препаратов глазного яблока целиком, либо фрагменты его стенки проводили на «Фотомикроскопе -III» («Оптон», Германия) с помощью аппаратно-программного комплекса автоматической морфоденситометрии «ДиаМорф Объектив», компании «ДиаМорф». Фоторегистрация осуществлялась на цветную (негативную и позитивную) пленку KodakProfessional, а также на цифровую фотовидеокамеру «ДиаМорф» в составе комплекта. Для оценки степени воспалительной реакции в тканях глаза вычисляли плотность воспалительных клеток в пределах стандартной сетки окуляр-микрометра при увеличении x250[6].

Из рандомизированного контролируемого исследования были исключены пациенты с наличием сопутствующей глазной патологии (диабетическая ретинопатия, витреомакулярный тракционный синдром, вторичная глаукома, отслойка сетчатки, хориоретинальная дистрофия и пр. ретинопатии), наличие воспалительной офтальмопатологии острого или хронического характера, проведение гипотензивной хирургии или иного офтальмохирургического вмешательства ранее 6 мес. до включения пациента в данное исследование, наличие в анамнезе кераторефракционной хирургии, препятствующей объективной тонометрии, сопутствующая терапия любыми препаратами из группы запрещенной терапии, пациенты с выраженными помутнениями сред, препятствующими качественной визуализации, а также с сопутствующими заболеваниями: сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидит.

Острота зрения до операции указана в табл. 1. Как видно из таблицы, острота зрения при аппозиционном ПЗУ острота зрения была изначально выше, чем при ХЗУГ и синехиальном ПЗУ.

Нами отмечено, что острый приступ глаукомы наблюдался, как правило, после 40 лет. По нашему мнению, это связано с гормональной дисрегуляцией, с предклимактерическим периодом у женщин. То есть врожденное генетически обусловленное заболевание проявляется в среднем возрасте во время гормональной дисфункции. Также с возрастом происходит увеличение размеров хрусталика, инволюционная задняя отслойка стекловидного тела, что также может способствовать предрасположенности возникновения острого приступа глаукомы, как отмечено ранее [8].

Из-за отека роговицы проведение гониоскопии пациентам основной группы было затруднено, поэтому всем пациентам перед исследованием закапывался глицерол. В случаях, когда проведение гониоскопии было возможным, у 140 (72,7%) пациентов первой группы были выявлены гонисинехии, узкий угол передней камеры (I степень открытия по Ван Бойнингену). У пациентов контрольной и группы сравнения угол передней камеры – средней ширины со 2-3-й степенью пигментации (по классификации А.П. Нестерова).

Таблица 1. Острота зрения у пациентов с ПЗУГ до лазерной иридэктомии

Table 1.

Тип глаукомы	Кол-во глаз	Острота зрения	
		0,01-0,3 n (%)	0,4-1,0 n (%)
ПЗУГ с эффективной ЛИЭ	16	2(12,5)	14(87,5)
ПЗУГ с неэффективной ЛИЭ	12	6(50)	6(50)
ХЗУГ	16	14(87,5)	2(12,5)

Результаты и их обсуждение. По результатам молекулярно-генетического, клинического и гистологического анализа у пациентов был подтвержден диагноз ПЗУГ, даже без наличия клинических признаков глаукомы. Согласно установленному диагнозу пациентам было проведено консультирование и даны рекомендации относительно возможности получить эффективное лечение в будущем.

Анализ результатов обнаруженных мутаций в 3-й группе пациентов с клиническим диагнозом “хроническая закрытоугольная глаукома” выявил полиморфизмы, перечисленные в таблице 2.

Таблица 2. Встречающиеся полиморфизмы у обследованных нами пациентов с ХЗУГ из описанных в литературе [9-19].

Table 2. The polymorphisms occurring in the examined patients with chronic angle-closure glaucoma from those described in the literature [9-19].

ГЕН	Описание гена	ОНП
IL-8 (интерлейкин-8)	Interleukin 8	rs4073
APEX1	Apurinic/apyrimidinic endodeoxyribonuclease 1 (апурино-апиримидиновая эндодезоксирибонуклеаза 1)	rs1130409
альфа 1 цепь коллагена 11-го типа - COL11A1	collagen type XI alpha 1 chain	rs1676486
		rs12138977
		rs2126642
		rs2622848
		rs3753841
альфа 1 цепь коллагена 1-го типа - COL1A1	collagen type I alpha 1 chain	rs1107946
		rs1800012
		rs2412298
		rs2586488
		rs72645331
		rs72656352
		rs72645365
		rs72667037
5-гидрокситриптаминорецептор 3С - HTR3C	5-Hydroxytryptamine Receptor 3C	rs7648564
		rs6808122
		rs6766410
фермент, ответственный за синтез нейромедиатора ацетилхолина-СНАТ	Choline O- Acetyltransferase	rs1258267
ABCC5 (АТФ-связывающий комплексный белок –транспортер)	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 5	rs1401999
ADAMTS17	a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin Type 1 Motif 17 (дизинтегрин и металлопротеиназа с тромбоспондином типа 1- 17)	rs375971368

В качестве клинического примера приводим мутацию в гене металлопротеиназы ADAMTS17 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin Type 1 Motif 17). У пациентки 41 года с приступом глаукомы (витреохрусталиковый блок) обнаружен ранее не описанный в литературе вариант (rs375971368) в гетерозиготном состоянии в 17 экзоне (из 22) в гене ADAMTS17, приводящий к замене аминокислоты глицин на серин в положении 808 (p.Gly808Ser, мутация типа миссенс), затрагивает неконсервативную аминокислоту. Вариант присутствует в базе данных популяционных частот gnomAD с частотой 0.003% (7 гетерозиготных носителей) и может приводить к развитию рецессивного синдрома Вайля-Маркесани 4 типа [20] - редкое наследственное заболевание соединительной ткани, характеризующееся сферофакией и дестабилизацией связочного аппарата хрусталика. Результаты *insilico* алгоритмов предсказания эффекта вариантов свидетельствуют в основном о безвредном влиянии данной замены на структуру белка. У данной пациентки данная мутация проявилась в развитии ПЗУГ. Никакой другой клинической симптоматики (низкий рост, короткопалость, неподатливость суставов, утолщение кожи на ладонях, пороки сердца) у пациентки не наблюдалось. Наши данные согласуются с данными Хохловой А.С. с соавт., которые исследовали уровни MMP-9 (желатиназы В) и TIMP-1 (тканевого ингибитора металлопротеиназы-1) в слезе [21]. При анализе соотношения MMP-9/TIMP-1 в слезе установлено повышение его уровня при глаукоме. Это свидетельствует о тесной взаимосвязи изменений иммунитета и гемостаза при ПЗУГ.

При ХЗУГ встречаются мутации в гене коллагена COL11A1, ADAMTS17 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin Type 1 Motif 17), отвечающие за пролиферативные процессы, объясняющие синехиогенезис в УПК[6].

Полиморфизмы гена MFRP (Membrane Frizzled-Related Protein – белок, связанный с авитками мембраны) rs3814762, rs36015759 и rs2510143, встречаются при наофтальме, микрофтальмии, критической гиперметропии, дегенерации сетчатки. Этот ген кодирует представителя семейства frizzled-родственных белков. Кодированный белок играет важную роль в развитии глаз. Белок кодируется бицистронным транскриптом, который также кодирует связанный с C1q и фактором некроза опухоли белок 5 (C1QTNF5)[22,23].

Нарушение активности матричных металлопротеиназ и их специфических ингибиторов приводит к дисбалансу биосинтеза и деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса и играет роль в развитии глаукомной дегенерации ганглиозных клеток сетчатки[24].

Тонкая и гибкая радужка при ХЗУГ при пониженной экспрессии гена COL1A1 и при полиморфизмах в гене металлопротеиназы подвергается изменениям положения, вызванным водными потоками, и, в сочетании с мутациями в генах, ответственных за пролиферацию, усугубляет зрачковый блок из-за закрытия синехиями[25, 26].

Таблица 3 – Выявленные однонуклетидные полиморфизмы (ОНП) в группе синехиального ПЗУ, в том числе, встречающиеся в мировой литературе, с описанием генов [9-19].

Table 3. The polymorphisms occurring in the examined patients with ITC with PAS from those described in the literature [9-19].

ГЕН	Описание	ОНП
белок, связанный с завитками мембраны -MFRP	Membrane Frizzled-Related	rs2510143
		rs36015759
		rs3814762
фермент, ответственный за синтез нейромедиатора ацетилхолина-CHAT	Protein Choline O- Acetyltransferase	rs1258267
ABCC5 (АТФ-связывающий комплексный белок –транспортер)	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 5	rs1401999
альфа 1 цепь коллагена II-го типа - COL11A1	collagen type XI alpha 1 chain	rs1676486
		rs12138977
		rs2126642
		rs2622848
		rs3753841
альфа 1 цепь коллагена I-го типа - COL1A1	collagen type I alpha 1 chain	rs1107946
		rs1800012
		rs2412298
		rs2586488
		rs72645331
		rs72656352
		rs72645365
		rs72667037
		rs72654802
PLEKHA7	pleckstin homology domain containing family A member 7 (доменгомологииплекстрина, содержащийсемейство A-7)	rs216489
		rs1027617
		rs366590
		rs11024060
		rs6486330
		rs11024097

При ПЗУГ обнаруживаются мутации гена Col1A1, который кодирует компонент цепи pro- α 1(I) коллагена I типа. Причем плотность коллагена I типа была выше в радужной оболочке глаз с острым приступом глаукомы, чем при первичной открытоугольной глаукоме, первичном закрытии угла передней камеры и в здоровых глазах [25, 26].



Рис. 1. Роль генетических факторов в патогенезе острой и хронической глаукомы на основании собственных данных и мировой литературы.

С целью изучения эффективности ретроспективной профилактической лазерной иридэктомии в УПК при ПЗУГ были проведены морфологические исследования на 3-х энуклеированных глазах пациентов с терминальной ПЗУГ 2-ой и 3-ей групп.

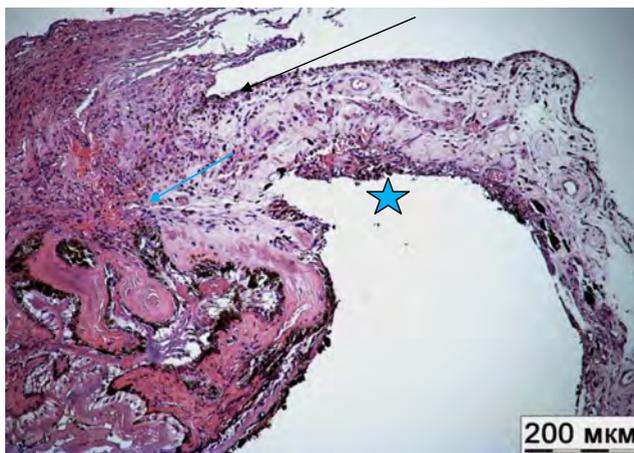


Рисунок 1 – Закрытие УПК в результате спания корня радужной оболочки с роговицей (черная стрелка). В месте сращения воспалительный инфильтрат. Отек и гиперемия ресничного тела (голубая стрелка). Радужка лишена пигментного листка в месте попытки лазерной иридэктомии (звездочка). Окраска гематоксилином – эозином.

Обнаружен повышенный синехиогенез после профилактической ЛИЭ во 2-й и 3-ей группе пациентов. Как показал ретроспективный анализ, в связи со стимуляцией синехиогенеза, ЛИЭ была неэффективна во 2-й и 3-ей группах пациента. В связи с неэффективностью в 80% случаев потребовалась факосмульсификация в различные сроки после ЛИЭ во 2 и 3 группах.

В результате профилактической ЛИЭ у пациентов 1 группы через 5-15 лет после операции не произошло усиленного синехиогенеза, не определялась глаукомной оптической нейропатии. У пациентов 2-ой и 3-ей группы произошло прогрессирование глаукомной нейропатии и синехиогенеза. В результате они получали гипотензивную терапию и на факосмульсификацию были взяты со 2-3 стадиями глаукомы из-за неэффективности иридэктомии через 3-7 лет после нее (табл.4). Это связано не только с катарактагенным эффектом ЛИЭ, но и с прогрессирующей глаукомной нейропатией, о чем свидетельствует ухудшение показателей компьютерной периметрии и углубление Э/ДЗН при офтальмоскопии (табл.4). Показатели периметрии в данном случае менее информативны из-за развития катаракты у большинства пациентов. Но незрелая катаракта не являлась препятствием для офтальмоскопии.

Таблица 4. Состояние остроты зрения и поля зрения у пациентов с ПЗУ после лазерной иридэктомии до факосмульсификации.

Table 4.

Тип глаукомы	Кол-во глаз	Острота зрения		Э/ДЗН	
		0,01-0,3 n (%)	0,4-1,0 n (%)	0,6-1,0 n (%)	0,1-0,5 n(%)
ПЗУГ с эффективной ЛИЭ	16	2(12,5)	14(87,5)	0	16(100)
ПЗУГ с неэффективной ЛИЭ	12	10(83,3)	2(16,7)	6(50)	6(50)
ХЗУГ	16	15(93,75)	1(6,25)	16(100)	0

Из всех пациентов 1 группы (100%) с эффективной ЛИЭ через 5-15 лет после операции отсутствовала глаукомная оптическая нейропатия, состояние зрительного нерва соответствовало норме. У 6 пациентов 2-ой группы (50%) через 3-15 лет заболевание стало соответствовать развитой, у 50% - далекозашедшей стадии, у 16 пациентов с ХЗУГ (100%) - развитой или далекозашедшей стадии.

Классификация ПЗУГ

По нашему мнению, ПЗУ может быть отнесено к периоду в течение глаукомной оптической нейропатии, предшествующего смерти аксонов, а затем и самой ГКС – «критическому периоду дисфункции» или к «пластическому» периоду. Это понятие в России введено Зуевой М.А. (2016). Во время этого периода по данным паттерн ЭРГ меняется активность ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) задолго до снижения толщины слоя нервных волокон сетчатки (СНВС). Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении [27].

По нашему мнению, учитывая все особенности предрасположенности к закрытоугольной глаукоме, в том числе генетической, эта форма глаукомы может относиться к врожденной.

На основе клинико-генетических данных, описанных в настоящей работе, классификация ПЗУГ будет выглядеть следующим образом: врожденный аппозиционный иридо trabecularный контакт и врожденный синехиальный иридо trabecularный контакт (ХЗУГ). При врожденном аппозиционном иридо trabecularном контакте можно делать профилактическую лазерную иридэктомию, т.к. она не простимулирует образование синехий. Если имеется врожденная предрасположенность к синехиям (полиморфизмы при ХЗУГ), то во взрослом возрасте они обязательно образуются. Более того, у предрасположенных к этому патологическому процессу пациентов лазерная иридэктомию может простимулировать репаративные процессы с образованием синехий.

Мы предлагаем термин «врожденная генетически обусловленная первичная закрытоугольная глаукома», т.к. все предрасполагающие к ней механизмы – и биомикроскопическое строение глаза, и склонность к образованию синехий– заложены при рождении. Но проявляется она себя в среднем возрасте, с началом гормональной дисрегуляции. Так, нами отмечено, что острый приступ глаукомы наблюдался, как правило, после 40 лет. Врожденную генетически обусловленную первичную закрытоугольную глаукому, если выполнена лазерная иридэктомия, но по каким-то причинам не дала эффекта, мы предлагаем оставить в группе ПЗУГ, оперированной лазером.

Что касается острого приступа глаукомы при конфигурации плато радужки, при зрачковом блоке, при синдроме неправильного тока внутриглазной жидкости (витреохрусталиковый блок), то классификация остается прежней. Потому что далеко не у каждого при заложенном при рождении механизме происходит острый приступ глаукомы. Ранее нами описано влияние вегетативной нервной системы на формирование острого приступа глаукомы[28].

Мы предлагаем придерживаться понятия «смешанная» глаукома в двух случаях, как в классификации Нестерова А.П. [29]:

- УПК закрыт только в одном сегменте и открыт в остальных отделах;
- УПК открыт, но он очень узкий, щелевидный.

При этой форме глаукомы преобладают механизмы нарушения регионарного кровообращения в сосудах ДЗН свойственные ПЗУГ[28].

Во всех ситуациях, когда изначально УПК был открыт, а в дальнейшем по каким-то причинам произошло его закрытие, предлагаем опираться на предложенную Рябцовой А.А. классификацию и называть такие формы комбинированной глаукомой [30**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. К комбинированной глаукоме (по Рябцовой А.А.) относятся глаукомы, включающие сочетание признаков первичной глаукомы с изменениями глазного яблока вторичного происхождения: поствоспалительными изменениями в области УПК, иридохрусталиковой диафрагмы глаза и другими постхирургическими изменениями, а также комбинацию первичной глаукомы с катарактой и послеоперационной афакией.

Таким образом, приводим классификацию ПЗУГ с учетом патогенетических особенностей:

врожденный аппозиционный иридотрабекулярный контакт (возможна профилактическая ЛИЭ);

врожденный синехиальный иридотрабекулярный контакт(ХЗУГ);

врожденная генетически обусловленная первичная закрытоугольная глаукома;

врожденная генетически обусловленная первичная закрытоугольная глаукома, оперированная лазером;

приступ глаукомы: острый и подострый (со зрачковым блоком, с витреохрусталиковым блоком или с плоской радужкой).

Отдельно выделена смешанная и комбинированная глаукома.

Итак, предложена классификация первичной закрытоугольной глаукомы на основе патогенетически значимых генетических полиморфизмах.

Генетические и биоинформатические методы исследования позволяют получить более полную информацию о наследственной предрасположенности к ПЗУГ с клиническими проявлениями после 40 лет. На основании большого объема исследований, проведенных нами, можно утверждать, что при одинаковых структурно-анатомических изменениях степень глаукомной оптической нейропатии различна. Возрастные особенности и влияние вегетативной нервной системы дают различную клиническую картину.

Выводы.

3. Найдены патогенетически значимые генетические полиморфизмы, ответственные за синехиогенез при ХЗУГ.
4. Предложена патогенетическая классификация ПЗУГ.
5. Для возможности уточнять прогноз хода течения и тяжести процесса у пациентов с ПЗУГ, для подбора оптимальной терапевтической тактики и возможности патогенетически-ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением усовершенствованного алгоритма анализа полученных данных при наличии биометрической предрасположенности к ПЗУГ.
6. Пациентам с генетической предрасположенностью к синехиогенезу рекомендовано проведение факоэмульсификации без предшествующей иридэктомии.

Список литературы

1. European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Chapter 2: Classification and Terminology Supported by the EGS Foundation: Part 1: Foreword; Introduction; Glossary; Chapter 2 Classification and Terminology // British Journal of Ophthalmology. – 2017. – № 101 (5). – P. 73-127.

МАТЕРИАЛ «ЛИТАР» В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛАУКОМЫ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

²Солонина С.Н., ^{1,2}Трояновский Р.Л., ³Малиновская Н.А., ³Баранов А.В., ⁴Литвинов С.Д., ³Мегада Д.В.

¹ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ Санкт-Петербург,

² ГБУЗ Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, ³ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический центр высоких медицинских технологий им. К.А. Раухфуса», Санкт-Петербург, ⁴ НОУ ВПО Медицинский университет «Реавиз», г. Самара
Санкт-Петербург, Самара, Россия

Резюме. В работе представлен опыт хирургического лечения глаукомы у детей и взрослых с применением полимер-солевого композитного материала «ЛитАр» у 44 больных (на 46 глазах) при выполнении фильтрующей операции синустрабекулэктомии (СТЭ) доступом через разрез конъюнктивы вдоль лимба. Подробно описана техника операции. Выполнив глубокую синустрабекулэктомию, дефект ткани закрывали композитным материалом «ЛитАр». После фиксации лоскута склеры на швы и сам лоскут также укладывали фрагмент материала «ЛитАр». Практически у всех больных достигнута стабилизация процесса. Нормализовалась гидродинамика. Зрительные функции сохранились или улучшились. Последнее особенно заметно при буфтальме с поражением роговицы. Предложенный композит оказался полезным, как для планового применения, так и при буфтальме для обеспечения быстрой ремиссии и улучшения зрения. Важным обстоятельством является то, что полимер-солевой материал «ЛитАр» успешно использован как при первичных операциях, так и при корригирующих вмешательствах у больных с устойчивой к лечению глаукомой.

Ключевые слова: полимер-солевой материал «ЛитАр», синустрабекулэктомия, рефрактерная глаукома, буфтальм.

Material «LitAr» in glaucoma surgery in children and adults

²Solonina S.N., ^{1,2}Troyanovsky R.L., ³Malinovskaya N.A., ³Baranov A.V., ⁴Litvinov S.D., ³Meгада D.V.

¹S.M. Kirov Military Medical Academy of the Defense Ministry Russian, Saint-Petersburg,

²Leningrad Regional Clinical Hospital, Saint-Petersburg, ³St. Petersburg Children's city multisectoral clinical center of high medical technologies C.A. Rauhufusa, ⁴Medical University "Reaviz", Samara,

Saint-Petersburg, Samara, Russia

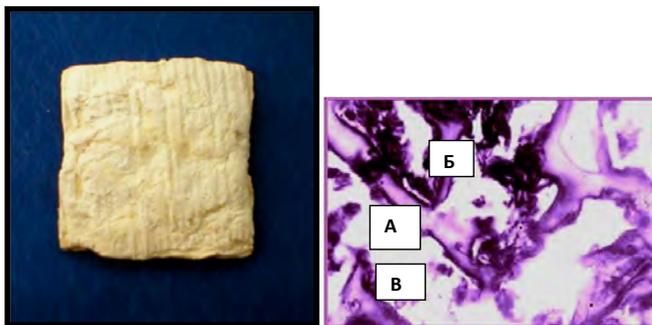
Resume. The paper presents the experience of surgical treatment of glaucoma in children and adults with the use of polymer-salt composite material "LitAr" in 14 patients (on 16 eyes) during the filtering operation of sinustrabeculectomy (STE) access through the conjunctival incision along the limb. The operation technique is described in detail. After deep sinustrabeculectomy was performed, the tissue defect was closed with LitAr composite material. After fixation of the scleral flap, a fragment of the "Litar" material was also placed on the sutures and the flap itself. Process stabilization was achieved in almost all patients. Hydrodynamics was normalized. Visual functions are preserved or improved. An important circumstance is that the polymer-salt material "Litar" has been successfully used both in primary operations and in corrective interventions in patients with treatment-resistant glaucoma.

Key words: polymer-salt material "LitAr", sinustrabeculectomy, refractory glaucoma, buphthalmos

Стабилизация и сохранение зрительных функций после хирургического лечения глаукомы обеспечивается надежной (стойкой) нормализацией гидродинамики глаза. В настоящее время остается актуальной проблема лечения рефрактерной, устойчивой к лечению глаукомы у детей и взрослых. Для достижения контролируемого внутриглазного давления и стабилизации функций предпринят широкий диапазон медикаментозных средств и хирургии с использованием аллоплантов, полимеров, водных шунтов и клапанов. Однако, несмотря на полученные положительные результаты хирургического и комбинированного лечения глауком, по мнению авторов, возникает необходимость повторных, в том числе, корригирующих вмешательств. Таким образом, назрела необходимость дальнейшего усовершенствования методик и разработки новых материалов с использованием нанотехнологий [1-8].

Цель. Обсудить результаты лечения глаукомы, в том числе рефрактерной с использованием полимер-солевого материала «ЛитАр».

Материал и метод. У 44 пациентов (на 46 глазах) в возрасте от 8 месяцев до 86 лет выполнены фильтрующие операции (синустрабекулэктомия) с применением полимер-солевого материала «ЛитАр». Для восстановления дренажной функции при восполнении дефекта ткани, возникающего в ходе синустрабекулэктомии (СТЭ) выполняли базальную иридэктомию заднюю трепанацию склеры (ЗТС). Для оптимизации заживления ложа конъюнктивы над склеральным лоскутом использовали материал "ЛитАр", который представляет собой высокоинтегрированную смесь биополимера (коллагена или альгината) и кристаллы соли (гидроксофосфат кальция или гидроксилатапит). На волокнах биополимера кристаллизованы (осаждены) друзы гидроксофосфата кальция (гидроксиапатита) с кристаллами размером 43 - 45 нм. Это близко к размерам солевого компонента в тканях организма (35 - 37 нм), который стимулирует регенерацию ткани в дефектном участке стволовыми клетками организма в зависимости от микроокружения, что обеспечивает появление в дефектном участке того типа ткани, которое требует нормальное анатомическое строение



АВ

Рис. 1. Материал "ЛитАр" (А) и его морфология (Б), ув.х 40: А - кристаллы гидроксоапатита, Б - волокна коллагена, В - пустота.

Под неплотно фиксируемый швами викрил 8/0 лоскут склеры размещали полоску материала "ЛитАр" с выстоянием на 0,5 - 1 мм за боковые края лоскута. Другой (оставшийся) фрагмент материала (например, из упаковки 5x5 мм, или 5x10 мм), укладывали в виде полоски на швы, фиксирующие лоскут склеры. Конъюнктивальный лоскут фиксировали у лимба. У 3 детей в возрасте 8 месяцев (на одном глазу), 1,5 лет (на 2 глазах), 2 года 3 мес. (на 2 глазах). У детей на 4 глазах былбуфтальм, на одном глазу - афакия после удаления врожденной катаракты и оперированная глаукома. На 4-х глазах ранее было проведено от одной до 4 операций. У взрослых 41 пациентов II стадия глаукомы была у 12 пациентов, III стадия у 18 пациентов, IV терминальная стадия - у 11 пациентов. Из них единственные глаза у 8 пациентов. У 2 больных с вторичной глаукомой с васкуляризированным бельмом с иридокорнеальными сращениями и перенесенными перфорациями роговицы после кератита и ожога роговицы, осложнённого десцеметоцеле. У одной пациентки быланеоваскулярная болящая терминальная глаукома. Сроки наблюдения: от 5 месяцев до 3 лет и 7 месяцев. Результаты. Практически у всех больных достигнута стабилизация процесса с нормализацией гидродинамики. У 3 пациентов (на 3-х) глазах потребовалась коррекция конъюнктивального лоскута. Зрительные функции сохранились или улучшились. Последнее особенно заметно при буфтальме с поражением роговицы. У больного с буфтальмом на обоих глазах (каждого глаза) разрешился отёк роговицы, существенно восстановилась её прозрачность.

Выводы. Получены позитивные результаты применения материала «ЛитАр» при лечении глаукомы у детей и взрослых, включая рефрактерную глаукому, врождённую быстро прогрессирующую, приводящую к растяжению оболочек глаза. Важным обстоятельством является то, что полимер-солевой материал «ЛитАр» успешно использован как при первичных операциях, так и при корригирующих вмешательствах у больных с устойчивой к лечению глаукомой, в том числе в отдалённом периоде.

Список литературы

1. Волков В.В. Офтальмохирургия с использованием полимеров / В.В. Волков, В.В. Бржеский, Н.А. Ушаков. – СПб.: Гиппократ, 2003. – 416 с.
2. Офтальмохирургия с использованием полимеров / Под ред. В.В. Волкова. – Изд. 2-е, перераб. и дополн. – СПб.: Гиппократ, 2009. – 568 с.
3. Литвинов С.Д., Леонтьев В.К., Марков И.И., Судакова Т.В. Современные тенденции в биоматериаловедении и полимер-солевой имплантат «ЛитАр». Вестник медицинского института «РЕАВИЗ» (РЕАБИЛИТАЦИЯ, ВРАЧ И ЗДОРОВЬЕ), № 5 (29), 2017 г. С. 11-38.
4. ¹Трояновский Р.Л., ^{2,3}Малиновская Н.А., ⁴Солонина С.Н., ²Баранов А.В., ⁵Литвинов С.Д., ⁴Головин А.С., ²Мегада Д.В., ²Прилуцких Ю.Ю., ⁶Клещёв М.А. Лечение глаукомы, рефрактерной и при буфтальме с использованием материала «ЛитАр». Сборник материалов IX Съезда офтальмологов Республики Беларусь с международным участием: сб. науч. тр. / под общ. ред. Т.А. Имшенецкой – Минск, 2019. – С. 120-121.
5. Р.Л. Трояновский ¹, С.Н. Солонина ², О.А. Синявский ², А.С. Головин ², Ю.Н. Антипова ⁴, Н.А. Малиновская ³, Т.В. Колобов ⁴. КЛАПАНА АНМЕД' ПРИ РЕФРАКТЕРНОЙ ГЛАУКОМЕ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ: НАБЛЮДЕНИЕ И АКТИВАЦИЯ. Сборник материалов XII Республиканской конференции с международным участием «Актуальные вопросы офтальмологии (реальность, мифы и противоречия)»: сб. науч. тр. / под общ. ред. Т.А. Имшенецкой – Минск, 2018. – 230 с. (С.195-201)
6. Litvinov S.D. The cytoactive biopolymer-salt base composite material ("LitAr") with nanosized crystals // News of science and education, Sheffield (GB), # 13, 2014 . P. 32 – 50.
7. Minckler D.S., Francis B.A., Hodapp E.A., Jampel H.D., Lin S.C., Samples J.R., Smith S.D., Singh K. Aqueous shunts in glaucoma. A report by the American Academy of Ophthalmology. // Ophthalmology. – 2008.-Vol. 115, № 6. - P. 1089-1098..
8. Troyanovsky R.L., Sinyavsky O.A., Solonina S.N., Antipova U.N., Golovin A.S. Drainage of the anterior and vitreous chamber with Ahmed glaucoma valve in uncontrolled pediatric and adult glaucoma / XXXII International Congress of Ophthalmology. 108th DOG Congress. Abstracts. World Ophthalmology Congress. WOC 5 - 9 June 2010. - Berlin, Germany, 2010. – P. 190.

МЕДИКАМЕНТОЗНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ И ПРЕПАРАТОВ, УЛУЧШАЮЩИХ КРОВООБРАЩЕНИЕ (НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ ЗАКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ).

Бакунина Н.А.^{1,2}, Колесникова Л.Н.², Салмаси Ж.М.², Балашова Л.М.^{Л3}

¹ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова, Москва,

²ФГАУ «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117513, Москва

³НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей

Резюме.

Цель. Изучить эффективность сосудистой, противовоспалительной и фибринолитической терапии, провести сравнительную оценку с лечением без сосудистой терапии у пациентов с закрытоугольной и смешанной глаукомами.

Пациенты и методы. Всего обследовано 55 пациентов с закрытоугольной и смешанной глаукомами, в основном с гиперметропичной рефракцией разной степени: 7 человек с острым приступом глаукомы, 6 человек с подострым приступом глаукомы (1 группа, с противовоспалительным лечением), 7 человек с острым приступом глаукомы и 6 человек с подострым приступом глаукомы (2 группа, с сосудистым лечением), 14 человек с хронической закрытоугольной глаукомой (3 группа) и 15 человек со смешанной глаукомой (4 группа). Все пациенты прошли офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, рефрактометрию, тонометрию, компьютерную периметрию, ОКТ и ОКТ-ангиографию, ИФА анализ для определения цитокинов.

Результаты. Назначение препарата Пентоксифиллин в качестве блокатора цитокинов и антиагреганта при ЗУГ способствовало, по нашему мнению, улучшению показателей остроты зрения, периметрии (MD), повышению плотности капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa перипапиллярной зоне (%), т.е. улучшило кровообращение в сосудах ДЗН, а также способствовало блокаде цитокинов, преимущественно во 2-ой группе пациентов.

По нашему мнению, персонализированный подход к лечению ЗУГ заключается в поддержании улучшения кровообращения в перипапиллярной зоне назначением курса лечения препаратом Пентоксифиллин в течение 6 месяцев после операции.

После факозмульсификации произошло достоверное увеличение плотности капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa ($p \leq 0,05$) ($51 \pm 3,5\%$), а после дальнейшего лечения Пентоксифиллином плотность капилляров продолжала увеличиваться во 2-4 группах в последующие 6 месяцев наблюдения. Толщина слоя нервных волокон (RNFL (retinal nerve fiber layer), структурный параметр) уменьшилась за счет уменьшения отека в 1-2 группах, незначительно увеличилась в 3-4 группах, по нашему мнению, за счет улучшения кровообращения. Усиление реперфузии в капиллярах глубокого сплетения при нормализации ВГД у больных глаукомой и дальнейшего лечением пентоксифиллином свидетельствует об эффективности предложенного лечения в дополнении к оперативному лечению. Полученные результаты подчеркивают преимущества предложенной терапии для лечения больных с закрытоугольной и смешанной глаукомами.

Заключение. До настоящего времени нет четких рекомендаций сосудистой терапии по лечению пациентов с ЗУГ и смешанной глаукомами, что создает необходимость ее дополнения в схемы лечения, учитывая сосудистый компонент ЗУГ и смешанной глауком.

Ключевые слова: первичная закрытоугольная глаукома, смешанная глаукома, пентоксифиллин, дексаметазон, гемаза, плотность сосудов глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне

MEDICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH PRIMARY ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA USING ANTI-INFLAMMATORY DRUGS AND DRUGS THAT IMPROVE BLOOD CIRCULATION (A NEW LOOK AT THE TREATMENT OF PRIMARY ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA).

N.A.Bakunina^{1,2}, L.N.Kolesnikova², J.M.Salmasi², L.M.Balashova^{2,3}

Abstract.

Purpose. To study the effectiveness of vascular, anti-inflammatory and fibrinolytic therapy, to conduct a comparative assessment with treatment without vascular therapy in patients with angle-closure (ACG) and mixed glaucoma.

Methods. A total of 55 patients with angle-closure and mixed glaucoma, mainly with hypermetropic refraction of varying degrees, were examined: 7 people with acute glaucoma attack, 6 people with subacute glaucoma attack (group 1, with anti-inflammatory treatment), 7 people with acute glaucoma attack and 6 people with subacute glaucoma attack (group 2, with vascular treatment), 14 people with chronic angle-closure glaucoma (group 3) and 15 people with mixed glaucoma (group 4). All patients underwent an ophthalmological examination, which included visometry, refractometry, tonometry, computer perimetry, OCT and OCT angiography, and an ELISA analysis to determine cytokines.

Results. The administration of the drug Pentoxifylline as a cytokine blocker and antiplatelet agent in ACG contributed, in our opinion, to an improvement in visual acuity, perimetry (MD), an increase in the density of capillaries of the deep vascular plexus at the level of lamina cribrosa in the peripapillary zone (%), i.e. improved blood circulation in the vessels of the optic nerve disc and also contributed to the blockade of cytokines, mainly in the 2-nd group of patients.

In our opinion, a personalized approach to the treatment of ACG is to maintain the improvement of blood circulation in the peripapillary zone by prescribing a course of treatment with Pentoxifylline for 6 months after surgery.

After phacoemulsification, there was a significant increase in the density of capillaries of the deep peripapillary vascular plexus at the level of lamina cribrosae ($p \leq 0,05$) ($51 \pm 3,5\%$), and after further treatment with Pentoxifylline, the capillary density continued to increase in 2-4 groups in the next 6 months of follow-up. The thickness of RNFL (Retinal nerve fiber layer, structural parameter) decreased due to a decrease in edema in 1-2 groups, slightly increased in 3-4 groups, in our opinion, due to improved blood circulation. Increased reperfusion in the capillaries of the deep plexus during normalization of IOP in glaucoma patients and further treatment with pentoxifylline indicates the effectiveness of the proposed treatment in addition to surgical treatment. The results obtained emphasize the advantages of the proposed therapy for the treatment of patients with angle-closure and mixed glaucoma.

Conclusion. To date, there are no clear recommendations of vascular therapy for the treatment of patients with ACG and mixed glaucoma, which creates the need for its addition to treatment regimens, taking into account the vascular component of ACG and mixed glaucoma.

Keywords: primary angle-closure glaucoma, mixed glaucoma, pentoxifylline, dexamethasone, hemase, density of vessels of the deep vascular plexus at the level of lamina cribrosa in the peripapillary zone

В патогенезе глаукомы важное значение могут иметь различные цитокины [1,2]. Как доказано Borkenstein A. et al. (2013г) и Takai Y. et al. (2012г.), активация лейкоцитов в глазах с глаукомой повышает уровень провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 β , TGF- β 1, IL-8 и т. д.) [1-5].

Ранее нами и другими авторами упоминалось, что ФНО- α повышается при всех видах глаукомы в сыворотке крови и слезе [7,8]. ФНО- α является провоспалительным цитокином. Эксперименты *in vitro* продемонстрировали, что ФНО- α может индуцировать апоптоз ганглиозных клеток при глаукоме посредством активации каспаз-3 и -8 или посредством окислительного стресса, вызванного дисфункцией митохондрий [9].

В одном из исследований Karahan M. et al. (2021г) [10] проанализировали влияние системного воспалительного статуса у пациентов с глаукомой, в том числе с первичной закрытоугольной глаукомой (ПЗУГ) путем расчета отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR- platelet-to-lymphocyteratio). Исследования показали, что у пациентов с ПЗУГ более высокие уровни тромбоцитов и PLR, чем в контроле. Эти результаты указывают на потенциальную роль системного воспаления в патогенезе глаукомы. Активированными тромбоцитами высвобождаются медиаторы воспаления, что

увеличивает количество тромбоцитов и лейкоцитов в тканях глаза [11]. Это предполагает, что активация тромбоцитов может играть роль в этиопатогенезе ПЗУГ.

Еще одно исследование Li S. et al. (2017г) доказывает роль системной воспалительной реакции в возникновении и развитии ПЗУГ. По мнению авторов, отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR- neutrophil-to-lymphocyteratio (NLR)) и отношение лимфоцитов к моноцитам (LMR-lymphocyte-to-monocyteratio (LMR)) независимо связаны с ПЗУГ и могут быть полезны в качестве биомаркеров у этих пациентов [12].

Провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли альфа (ФНО-а) и интерлейкин-1 (ИЛ-1)) могут быть блокированы антагонистами рецепторов цитокинов, моноклональными антителами, растворимыми рецепторами цитокинов и регуляторными цитокинами с противоположными эффектами [13].

В настоящее время в клинической фармакологии развивается интересное направление, основанное на выявлении у препаратов не только побочных, но и полезных эффектов.

Мы нашли несколько работ, доказывающих эффективность блокирования цитокинов пентоксифиллином [13-17]. Авторы исследования [14] исходно назначали пентоксифиллин по 200 мг 1 раз в день внутривенно (в/в) в течение 10 дней, далее, по 1800 мг/день перорально в течение 4-х недель до окончания трехмесячного курса терапии при эндокринной офтальмопатии [14]. Другие авторы [18] предлагают использовать пентоксифиллин в качестве блокатора цитокинов при саркоидозе, что позволит уменьшить дозировку применяемого дексаметазона или даже при «цитокиновом шторме», сопровождающим COVID-19 [19-21]. Пентоксифиллин снижает сывороточные уровни провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ) -6, ИЛ-1, ФНО-альфа, С-реактивный белок и другие иммунорегуляторы. Также было обнаружено, что он оказывает антитромботическое, антиоксидантное и антифибриногенное действие. Эти свойства могут помочь предотвратить или смягчить воспалительную реакцию и гиперкоагуляцию, которые развиваются при инфекции SARS-CoV-2 [19-21].

Как известно из инструкции препарата пентоксифиллин, показанием к его применению является острая, подострая и хроническая недостаточность кровообращения в сетчатке или в сосудистой оболочке глаза. Пентоксифиллин является лицензированным препаратом, используемым для лечения и других заболеваний, поэтому клинические испытания фазы I не требуются для введения людям.

TerHorst S.A.J. et al. в 2004 г. проводилось исследование Трентала на крысах. Применение препарата увеличивало выживаемость крыс в среднем на 3 дня, уменьшало интраальвеолярное и внутрисосудистое отложение фибрина, снижало уровень провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-6), ингибировало продукцию свободных радикалов кислорода [22]. Фибрин имеет провоспалительные и профибринные свойства за счет активации воспалительных клеток и фибробластов.

Kwiecien S. et al. (2004г) доказали, что применение пентоксифиллина вызывает торможение ранней фазы воспалительной реакции при язве желудка за счет уменьшения активности нейтрофилов и торможения продукции ФНО-α [23].

Учитывая системную воспалительную реакцию, лимфоцитарно-плазмочитарную инфильтрацию при закрытоугольной глаукоме, выявленную нами при морфологическом исследовании, выраженное фибринообразование и своеобразный «цитокиновый шторм» во время приступа глаукомы, по нашему мнению, необходимо применение дексаметазона, фибринолитика гемазы и блокатора цитокинов пентоксифиллина.

Учитывая нарушение кровообращения на уровне lamina cribrosa при закрытоугольной и смешанной глаукоме [7], применение препарата, улучшающего реологические свойства крови, является патогенетически обоснованным.

Материалы и методы. Всего обследовано 55 пациентов с закрытоугольной и смешанной глаукомой, в основном с гиперметропичной рефракцией разной степени: 7 человек с острым приступом глаукомы, 6 человек с подострым приступом глаукомы (1 группа), 7 человек с острым приступом глаукомы и 6 человек с подострым приступом глаукомы (2 группа, с сосудистым лечением), 14 человек с хронической закрытоугольной глаукомой (3 группа) и 15 человек со смешанной глаукомой (4 группа). Все пациенты прошли офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, рефрактометрию, тонометрию, компьютерную периметрию, ОКТ и ОКТ-ангиографию, ИФА анализ для определения цитокинов. На ОКТ-ангиографии у всех пациентов наблюдалось нарушение перипапиллярного кровотока (снижение плотности капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения) на уровне lamina cribrosa относительно парного глаза. В слезе и в крови у всех пациентов обнаружено повышение уровня провоспалительных цитокинов - цитокинов макрофагального происхождения - ИЛ-6 и ФНО-альфа (фактор некроза опухоли-альфа); в сыворотке крови и, особенно, в слезе при

закрытоугольной глаукоме - ТФР бета1 (тромбоцитарный фактор роста бета1), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов-Vascular endothelial growth factor)[7].

В 1-ой группе пациентов (табл.1) с острым или подострым приступом глаукомы во время иридоэктомии и (или) факосмульсификации хрусталика с противовоспалительной целью в связи с развитием фибриноидного синдрома во время приступа глаукомы проводили стандартную пульс-терапию глюкокортикостероидами (ГК) по 8мг. в течение 2-х дней. В связи с развитием фибриноидного синдрома в передней камере у пациентов с приступом глаукомы, с целью фибринолиза и в качестве антиагреганта применялась парабульбарногомаза по 5 000 ЕД., разведенная в 0,5 мл антиоксиданта - 1% раствора эмоксипина в течение 3-х дней.

Во 2-ой группе (табл.1) с приступами глаукомы применяли терапию пентоксифиллином 2% с противовоспалительной, антиагрегантной и сосудистой целью. Пентоксифиллин 2% вводили по 200 мг в день в/в струйно в течение 3-х дней, далее по 1200 мг/день рего в течение 4 недель. А также применялась противовоспалительная терапия: пульс-терапия глюкокортикостероидами (ГК) по 8мг. в течение 2-х дней, а с целью фибринолиза и в качестве антиагреганта применялась парабульбарногомаза по 5 000 ЕД., разведенную в 0,5 мл антиоксиданта - 1% раствора эмоксипина в течение 3-х дней.

В 3-ей группе (табл.1) у пациентов с I, II или III стадией хронической закрытоугольной глаукомы по данным периметрии, с III-IV степенью по системе Ван-Бойнингена закрытия угла передней камеры по данным гониоскопии, во время факосмульсификации хрусталика с иридоэктомией и (или) синустрабекулэктомией применяли в/в терапию пентоксифиллином 2% в течение 3-х дней, далее по 1200 мг/день рего в течение 4 недель, глюкокортикостероидами (ГК) по 8мг. в течение 2-х дней парабульбарногомазу по 5 000 ЕД, разведенную в 0,5 мл антиоксиданта - 1% раствора эмоксипина в течение 3-х дней.

В 4-ой группе пациентов (табл.1) со смешанной глаукомой во время факосмульсификации хрусталика и (или) синустрабекулэктомии для предотвращения фибриноидного синдрома применяли внутривенную (в/в) терапию глюкокортикоидами (ГК) дексаметазоном 0,4% по 8мг. в течение 2-х дней и терапию пентоксифиллином 2% по 200мг в день в/в струйно в течение 3-х дней, далее по 1200 мг/день рего в течение 4 недель. В группу со смешанной глаукомой отбирались пациенты по данным гониоскопии: или с узким углом передней камеры (III-IV степень открытия по системе Ван-Бойнингена), или с частичным закрытием угла передней камеры, когда сочетается открытый угол передней камеры с закрытым углом в других квадрантах в одном и том же глазу.

Таблица 1. Применение противовоспалительной и сосудистой терапии у пациентов с закрытоугольной и смешанной глаукомами.

1 группа (приступ глаукомы)	2 группа (приступ глаукомы)	3 группа (хроническая закрытоугольная глаукома)	4 группа (смешанная глаукома)
В\в дексаметазон 0,4% 8мг.	В\в дексаметазон 0,4% 8мг.	В\в дексаметазон 0,4% 8мг	В\в дексаметазон 0,4% 8мг.
	Пентоксифиллин 2%-200мг	Пентоксифиллин 2%-200мг	Пентоксифиллин 2%-200мг
П/б гемаза 5000ЕД	П/б гемаза 5000ЕД	П/б гемаза 5000ЕД	

Исходно при компьютерной периметрии после снижения ВГД в 1-2 группах пациентов выявлялись небольшие относительные или абсолютные скотомы макулярной и парамакулярной областей преимущественно в верхней половине поля зрения у 13 (50%) пациентов.

Снижение световой чувствительности у всех пациентов 3-ей группы (100%) наблюдалось в парамакулярной области и в верхней половине поля зрения (MDCp.-18,14±10,25).

Снижение световой чувствительности в 48% (7 глаз) 4-ой группы наблюдалось в парамакулярной области (MD=-2,0 до -6,0); на остальных глазах 4-ой группы нарушение световой чувствительности было отмечено больше в верхне-носовом квадранте (MD=-6,0 до -18,0)..

При оценке толщины СНВС учитывались поправки на рефракцию, т.к. отмечено утолщение перипапиллярного СНВС у пациентов с дальнозоркостью [16]. В 1-2 группах толщина слоя нервных волокон (табл.1) увеличена за счет отека ($145 \pm 30,13$) при приступе глаукомы (рис.1).

У 3-ей группы пациентов с ХЗУГ на ОКТ толщина слоя нервных волокон меньше нормы в среднем в верхнем секторе на $30 \pm 2\%$, в нижнем секторе на

$20 \pm 5\%$; у пациентов 4-ой группы со смешанной глаукомой меньше нормы в среднем на $25 \pm 2\%$ в нижнем секторе, а в верхнем на $30 \pm 5\%$, что подтверждало наличие оптической нейропатии у пациентов этих групп.

Цифры в протоколе ОКТ-ангиографии - это плотность сосудов в %, т.е. процент площади, занимаемый сосудами в исследуемой области. При оценке данных ангио-ОКТ нами отмечено снижение плотности капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa у пациентов 1-2 групп с приступами глаукомы ($33 \pm 5,6$) в сравнении с парными глазами и плотностью капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения пациентов 3-4 групп ($50 \pm 4,7$). На уровне поверхностного сосудистого сплетения плотность сосудов ДЗН не отличалась от контрлатерального глаза. Снижение плотности капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa у пациентов 3-4 групп с ХЗУГ и смешанной глаукомой подтверждает тот факт, что в патогенезе этих групп глауком принимают участие механизмы, похожие на механизмы при приступах глаукомы.

Толщина комплекса ганглиозных клеток (GCC) $-46 \pm 12,13$ в 1-2 группах с приступами глаукомы является предиктором периметрических изменений при ПЗУГ и коррелирует со снижением плотности капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa (рис.2). Истончение комплекса ганглиозных клеток (GCC) (рис.2) предшествует истончению слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) (retinal nerve fiber layer -RNFL) при ЗУГ в 1-2 группах.

Результаты и их обсуждение.

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

Результаты по основным параметрам, на которые влияет предложенное лечение в 4-х группах пациентов, представлены в таблицах 1-4.

В ранний послеоперационный период на микрососудистую сеть может повлиять: асептическое воспаление, фармакологические препараты, особенности хирургии и прозрачность роговицы. Поэтому наиболее достоверными мы считали результаты влияния лечения на сосуды через 3 месяца.

Отраженные в таблицах 1-4 данные демонстрируют тот факт, что площадь поперечного сечения СНВС (RNFL(мкм)) почти не изменилась в 3-ей и 4-ой группе пациентов, уменьшилась за счет уменьшения отека нервных волокон в 1-ой и 2-ой группах ($140 \pm 19,15$) через 1 мес. после лечения ($p < 0,001$). Толщина слоя нервных волокон с тенденцией к нормальным показателям наблюдается у пациентов 2-ой группы уже через 1 мес. после лечения ($102 \pm 10,2$). Толщина комплекса ганглиозных клеток после лечения практически не изменилась в 1,3,4 группах (табл. 1), в то время как у пациентов 2-ой группы несколько увеличилась ($3 \pm 1,96$ мкм) (рис.3).

Как видно из таблиц, применение препарата пентоксифиллин комбинации с гемазой п/б и ГК в/в, способствовало улучшению показателей периметрии (MD) и индекса поля зрения - VFI), особенно в 3-4 группах, и показателей ОКТ и ОКТ-ангиографии не только через 2 недели, но и через 3 и 6 мес. после начала лечения. Тогда как терапия без применения сосудистого препарата у пациентов 1 группы способствовала незначительной положительной динамике этих показателей. Повышение светочувствительности сетчатки (MD) достоверно ($p < 0,001$) наблюдали у пациентов 2-4 групп (табл. 3-5, рис. 6-7).

Имеет место достоверное увеличение плотности капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне у пациентов 2-4 групп на $18 \pm 2,1$ (таблицы 2-5) через 1 мес., 3 мес., 6 мес., что говорит об улучшении микроциркуляции на уровне lamina cribrosa. После лечения без применения пентоксифиллина у пациентов 1 группы эти показатели менее изменились через 1 мес. Тогда как через 3-6 мес. оставались прежними (рис.4-5).

Таблица 2. Влияние комбинации ГК с гемзой на основные показатели периметрии, ОКТ и ОКТ-ангиографии в 1-ой группе.

Клинические показатели	До лечения	Через 1 мес. после лечения	Через 3 мес. после лечения	Через 6 мес. после лечения
MD(дБ)	-2,13±1,25	-2,05±1,52	-1,42±1,75	-1,25±1,43
RNFL(мкм)(площадь поперечного сечения СНВС)	145±30,13	95±19,15	95±11,12	95±11,2
Плотность капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне (%)/контралатеральные глаза	33±5,6/50±4,7	40±3,5/50±4,8	42±3,2/50±4,5	42±3,2/50±4,5
Толщина комплекса ганглиозных клеток (GCCavg), мкм	46±12,13	48±3,23	58±3,23	58±3,23

Таблица 3. Основные показатели периметрии, ОКТ и ОКТ-ангиографии во 2-ой группе.

Клинические показатели	До лечения	Через 1 мес. после лечения	Через 3 мес. после лечения	Через 6 мес. после лечения
MD(дБ)	-2,15±1,15	-1,23±0,43	-1,03±0,82	-1,03±0,43
RNFL(мкм)(площадь поперечного сечения СНВС)	145±30,13	102±19,15	102±12,42	102±10,2
Плотность капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне (%)/контралатеральные глаза	33±5,6/50±4,7	50±3,5/51±4,7	52±3,1/52±4,7	55±3,7/55±4,7
Толщина комплекса ганглиозных клеток (GCCavg), мкм	53±9,11	54±7,15	55±7,15	56±7,15

Таблица 4. Основные показатели периметрии, ОКТ и ОКТ-ангиографии в 3-ей группе ПЗУГ после лечения.

Клинические показатели	До лечения	Через 1 мес. после лечения	Через 3 мес. после лечения	Через 6 мес. после лечения
MD(дБ)	-18,14±10,25	-15,45±9,52	-15,43±1,67	-14,15±1,23
RNFL(мкм)(площадь поперечного сечения СНВС)	63±12,2	64±12,32	64±10,12	64±10,2
Плотность капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне (%)/контралатеральные глаза	40±4,7/52±4,5	50±4,5/54±4,5	52±4,5/54±4,5	54±4,5/55±4,5
Толщина комплекса ганглиозных клеток (GCCavg), мкм	46±12,13	48±3,23	48±3,23	48±3,23

Таблица 5. Основные показатели периметрии, ОКТ и ОКТ-ангиографии в 4-ой группе смешанной глаукомы после лечения.

Клинические показатели	До лечения	Через 1 мес. после лечения	Через 3 мес. после лечения	Через 6 мес. после лечения
MD(дБ)	-12,14±5,25	-11,45±5,52	-11,03±4,67	-11,15±4,23
RNFL(мкм)(площадь поперечного сечения СНВС)	86±2,74	87±2,53	88±2,42	88±3,2
Плотность сосудов глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне (%) /контралатеральные глаза	43±4,5/53±4,5	50±4,5/54±4,5	52±4,5/54±4,5	54±4,5/55±4,5
Толщина комплекса ганглиозных клеток (GCCavg), мкм	63±4,11	64±7,15	64±7,15	65±7,15

Таким образом, назначение препарата Пентоксифиллин в качестве блокатора цитокинов и антиагреганта при ЗУГ способствовало, по нашему мнению, улучшению показателей периметрии (MD), повышению плотности капилляров глубокого сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa в перипапиллярной зоне (%), т.е. улучшало кровообращение в сосудах ДЗН, а также блокаде цитокинов, преимущественно во 2-ой группе пациентов.

По нашему мнению, персонализированный подход к лечению ПЗУГ заключается в поддержании улучшения кровообращения в перипапиллярной зоне назначением курса лечения препаратом Пентоксифиллин в течение 6 месяцев после операции.

Во время операций клинически значимых осложнений не отмечено. В послеоперационном периоде наблюдался остаточный отек роговицы у 13 пациентов (50%) 1-2 групп. При выписке острота зрения у пациентов 1-2 групп составила 0,61±0,1, у пациентов 3-4 групп - 0,3±0,2. Повышение остроты зрения связано со снижением отека роговицы и нормализацией ВГД, улучшением кровообращения на уровне перипапиллярного глубокого сосудистого сплетения. Стабилизация зрительных функций отмечена у всех больных в течение 1 года после операции. Средний уровень ВГД (ро) составил 12,5±0,87 мм рт. ст.

После фактомультисификации произошло достоверное увеличение плотности капилляров глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa ($p \leq 0,05$) (51±3,5%), а после дальнейшего лечения Пентоксифиллином плотность капилляров продолжала увеличиваться во 2-4 группах в последующие 6 месяцев наблюдения. Структурные параметры (толщина RNFL) уменьшилась за счет уменьшения отека в 1-2 группах, незначительно увеличилась в 3-4 группах, по нашему мнению, за счет улучшения кровообращения. Усиление реперфузии в капиллярах глубокого сплетения при нормализации ВГД у больных глаукомой и дальнейшего лечением пентоксифиллином свидетельствует об эффективности предложенного лечения в дополнении к оперативному лечению. Полученные результаты подчеркивают преимущества предложенной терапии для лечения больных с закрытоугольной глаукомой.

Заключение. До настоящего времени нет четких рекомендаций сосудистой терапии по лечению пациентов с ЗУГ и смешанной глаукомой, что создает необходимость ее дополнения в схемы лечения, учитывая сосудистый компонент ЗУГ и смешанной глаукомы.

Выводы:

В глазах с ПЗУГ и смешанной глаукомой было обнаружено значительное снижение плотности микроциркуляции на уровне глубокого перипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa по сравнению с пациентами 1-2 групп и с контралатеральными глазами, особенно при ХЗУГ.

Это снижение плотности капилляров достоверно коррелировало с истончением слоя GCC пациентов с приступом глаукомы 1-3 групп.

После ФЭХ с применением в лечении Пентоксифиллиначерез 1-3мес. происходило увеличение толщины глубокогоперипапиллярного сосудистого сплетения на уровне lamina cribrosa, во2группе – значительное увеличение толщины этого сплетения в последующие 6 месяцев.

Предиктором глаукоматозныххирепериметрических изменений при ПЗУТ является истончение слоя ганглиозных клеток и уменьшение плотности сосудов ДЗН в глубоком сосудистом сплетении.

Таким образом, факоэмульсификация хрусталика с последующей сосудистой терапией пентоксифиллином индуцировала значительное улучшение перипапиллярной перфузии.

ОКТ-ангиография-неинвазивный количественный анализ плотности сосудов, который может помочь в мониторинге успеха терапии после операции по поводу ЗУТ и смешанной глаукомы.

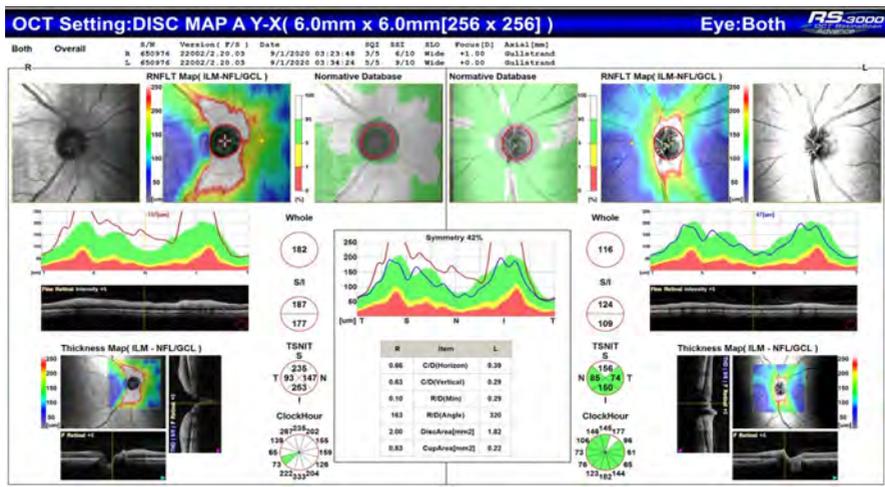


Рис. 1. Пациент В. Слой нервных волокон (RNFL) в первые дни подострого приступа глаукомы. Fig. 2. Patient B. Retinal nerve fiber layer (RNFL) in the first days of a subacute glaucoma attack.

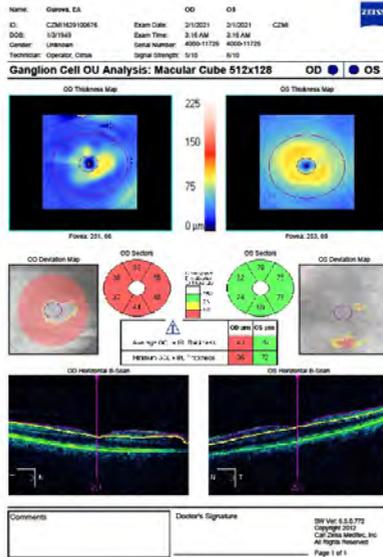


Рис. 2. Пациент Г. Состояние ганглиозных клеток у пациента с подострым приступом глаукомы после снятия отека роговицы (протокол макула) до лечения.

Fig. 1. Patient G. Condition of ganglion cells (macula Protocol) before treatment.

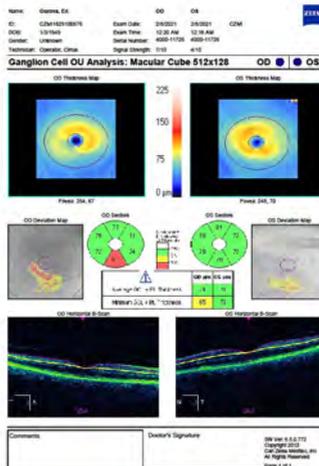


Рис. 3. Пациент Г. Состояние ганглиозных клеток у пациента с подострым приступом глаукомы после снятия отека роговицы (протокол макула) после лечения.

Fig. 1. Patient G. Condition of ganglion cells (macula Protocol) after treatment.

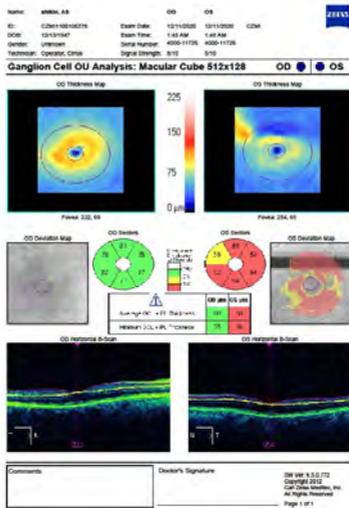


Рис. 4 Пациент Ш. Состояние ганглиозных клеток у пациента 1 группы с острым приступом глаукомы до лечения.

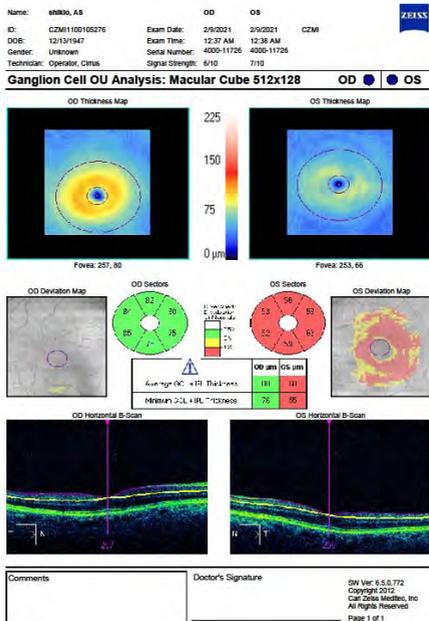


Рис. 5 Пациент Ш. Состояние ганглиозных клеток у пациента 1 группы с острым приступом глаукомы после лечения (без пентоксифиллина).

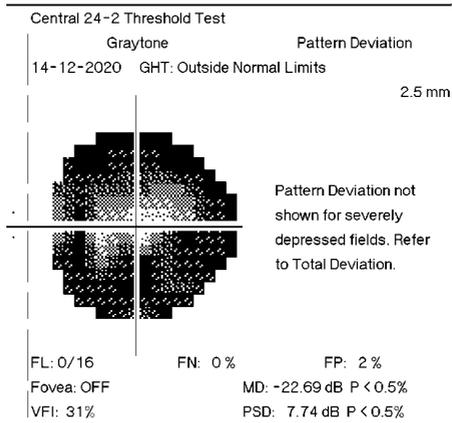


Рис. 6. Пациент А. Поле зрения пациента с ХЗУГ до лечения (с пентоксифиллином).

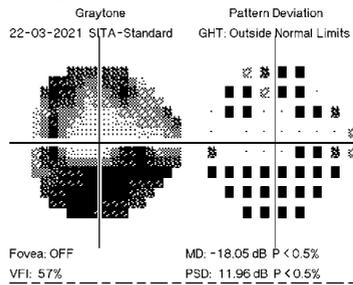


Рис. 7. Пациент А. Поле зрения пациента с ХЗУГ через 3 мес. после лечения (с пентоксифиллином).

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ КРУПНОЙ ЭПИБУЛЬБАРНОЙ МЕЛАНОМЫ И МЕЛАНОМЫ СВОДА ПРОДОЛЖЕННОГО РОСТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАЗЕРНОЙ ЭКСЦИЗИИ И ГАММА-НОЖА

Трояновский Р.Л.¹, Солонина С.Н.², Иванов П.И.³, Литвинов С. Д.⁴, Медников С. Н.⁵

¹Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова; ²ГБУЗ Ленинградская областная клиническая больница;

³Радиохирургический Центр Международного Института Биологических Систем им. С. М. Березина, Санкт-Петербург;

⁴НОУ ВПО Медицинский университет "Реавиз", г. Самара, Россия; ⁵ГКУЗ "Ленинградское областное

патологоанатомическое бюро".

Санкт-Петербург, Самара, Россия.

Резюме. В лечении меланомы конъюнктивы предпочтение отдается комбинированным методам с применением различных видов лучевой терапии. Мы использовали в лечении эпibuльбарной меланомы стереотактическую радиохирургию с применением гамма-ножа с последующей лазерной эксцизией. Обсуждаются 2 случая. Случай 1. Мужчина, 38 лет с обширной эпibuльбарной меланомой на правом глазу. Для лечения опухоли использовали гамма-нож (70 Грей) с последующей лазерной эксцизией на 7 день. Через 3,5 года у пациента появилось пигментное разрастание конъюнктивы в области верхнего лимба шириной 1,5-2 мм. После локальных аппликаций 0.04 % раствором митомцина-С выполнена лазерная эксцизия: признаков меланомы не выявлено. Период наблюдения составил 7 лет. Случай 2. Женщина 76 лет обратилась с жалобами на быстрорастущую продолженного роста опухоль в области нижнего конъюнктивального свода в правом глазу. Новообразование удалено 1,5 года назад с гистологическим заключением ангиофибромы. Для лечения мы использовали гамма-нож (60 Грей) с последующей лазерной эксцизией и пластикой конъюнктивой и композитным материалом «ЛигАр», который представляет собой высокоинтегрированную смесь биополимера (коллагена или альгината) и кристаллы соли (гидроксофосфат кальция или гидроксилпатит). На волокнах биополимера кристаллизованы (осаждены) друзы гидроксофосфата кальция (гидроксопатита) с кристаллами размером 43 - 45 нм. Период наблюдения составил 5 лет. Признаков продолженного роста и генерализации процесса не выявлены в течение всего периода наблюдений. У обоих пациентов получены высокие визуальные функции. Гамма-нож с последующей лазерной эксцизией оказался эффективным в комбинированном лечении эпibuльбарной меланомы, даже после продолженного роста.

Ключевые слова: конъюнктивальная меланома, эпibuльбарная меланома, стереотактическая радиохирургия с применением гамма-ножа, лазерная эксцизия.

Long-term results of combined treatment of large epibulbar melanoma and melanoma of the arch of continued growth using laser excision and gamma knife.

Troyanovsky R.L.¹, Solonina S.N.², Ivanov P.I.³, Litvinov S.D.⁴, Mednikov S.N.⁵

¹S.M. Kirov Military Medical Academy of the Defense Ministry Russian, Saint-Petersburg;

²Leningrad Regional Clinical Hospital, Saint-Petersburg; ³Radiosurgery, Stereotactic Radiotherapy and General Oncology Clinic MIBS, Saint-Petersburg, Russian Federation; ⁴Medical University "Reaviz", Samara; ⁵State Health Agency "Leningrad Regional

Bureau of Pathology",

Saint-Petersburg, Samara, Russia

Summary. In the treatment of conjunctival melanoma (CM), preference is given to combined methods with the use of various types of radiation therapy. We applied the use of Gamma Knife radiosurgery (GKRS) with the following laser tumor excision (LTE) in the treatment of CM. Methods: 2 cases are considered. Case 1. Male, 38 years old with large epibulbar CM in the right eye. For the treatment of the tumor we used GKRS (70 Gy) with following LTE in 7 days. After 3.5 years, pigmented conjunctival tissue with a height of 1.5-2 mm was detected in the area of the upper limb. After local application of 0.04% solution of mitomycin-C, LTE was performed: melanoma cells are not determined. Follow up period is 7 years. Case 2. Female, 76 years old complained of a rapidly

growing recurrent CM in the lower conjunctival fornix (CF) of her right eye. The tumor was removed 1.5 years ago with the histological conclusion as angiofibroma. For the treatment we used GKRS (60 Gy) with following LTE, local tissues and composite material «LitAr» plastic in 4 days. The histological conclusion: mixed cell melanoma. Follow up period is 5 years. *Results:* Symptoms of local tumor recurrence and generalization process were not detected during all period of observation. High visual functions are preserved in both patients. *Conclusions:* The gamma knife (GKRS) followed by laser excision proved to be effective in the combined treatment of epibulbar melanoma, even after continued growth.

Key words: conjunctival melanoma, epibulbar melanoma, gamma knife stereotactic radiosurgery, laser excision

Развитие опухоли чаще связывают с малигнизацией первичного приобретенного меланоза конъюнктивы (70–75% случаев) или предсуществующего конъюнктивального невуса (около 20 %), реже опухоль в конъюнктиве развивается de novo (около 10%). Таким образом, первичный приобретенный меланоз и невус можно считать доказанными факторами риска развития меланомы конъюнктивы [[7,8,10], 11]. Диагностируют меланому конъюнктивы, как правило, в среднем и старшем возрасте, взаимосвязи частоты опухоли и пола не зафиксировано [14]. Потенциально при пожизненном лечении 10-летняя смертность составляет от 13% до 30% [9,11,12]. Наиболее часто конъюнктивальная меланوما метастазирует в региональные лимфатические узлы, легкие, печень и мозг [11].

Многочисленные наблюдения последних лет по удалению меланом конъюнктивы указывают на ряд технических сложностей, связанных с безопасностью и радикальностью их удаления. Комбинированные методы лечения меланом конъюнктивы с применением различных видов лучевой терапии [1,2,3,4,5] являются предпочтительными. Ранее мы не встречали работ с использованием гамма-ножа (ГН) для лечения эпибульбарных меланом (ЭМ).

Цель работы: Обсудить результаты комбинированного лечения большой ЭМ глаза и меланомы свода продолженного роста с использованием лазерной эксцизии и ГН.

Материалы и методы. Случай 1. Больной А.Б. 38 лет поступил с жалобами на быстро растущую пигментированную опухоль правого глаза, затрудняющую смыкание век и движения глазного яблока. Пациента беспокоили покраснение, отделяемое из глаза. В течение 20 лет в наружной половине глазного яблока отмечал слабо пигментированное пятно диаметром около 2 мм. Увеличение пятна и быстрый рост шарообразной коричневого цвета, размером почти с перепелиное яйцо опухоли случился в течение последних 6 – 8 месяцев. На глазном яблоке от наружного лимба горизонтально расположена опухоль коричневого цвета размерами 13x10x8 мм, смещающаяся с конъюнктивой. В своде последней идут мощные сосуды. В преаурикулярной области незначительная асимметрия лимфоузла по сравнению с противоположной стороной. Острота зрения 1,0. Цитологическое исследование мазка-отпечатка подтвердило наличие злокачественных клеток. Для лечения ЭМ применили облучение на ГН (Leksell Gamma Knife) с последующей лазерной эксцизией опухоли на 7 сутки после ГН. При облучении особое внимание уделяли иммобилизации глазного яблока. Доза облучения в центре опухоли составила 70 - 80 Гр. Эксцизию опухоли проводили в пределах здоровых тканей с предварительной облитерацией сосудов, лазерной карбонизацией ложа удаленной ЭМ и пластикой конъюнктивы. Гистологическое заключение: веретенноклеточная пигментная меланнома. Заживление послеоперационной раны проходило медленно, осложнилось локальной лучевой кератопатией и завершилось в течение четырех месяцев с истончением склеры в центре удаленной меланомы. В течении последующих 1,5 лет пациент, несмотря на неоднократные вызовы, на осмотр не являлся. При активном вызове у пациента при осмотре через 3,5 года выявлено пигментное разрастание конъюнктивы и лимба толщиной 1,5-2 мм. в меридиане от 10 до 2-х часов шириной 3,8-4,0 мм с активностью сосудов преимущественно в верхней половине глазного яблока. При цитологическом исследовании мазка-отпечатка выявлены клетки, подозрительно на меланому. На фоне местного применения инстилляций 0,04 % раствора митомцина-С в течении 10-и дней произведена инструментально-лазерная эксцизия вновь выявленного пигментного новообразования. При гистологической верификации признаков опухолевых клеток (меланомы) в исследуемом материале не определяется. Гистологическая картина соответствует хроническому конъюнктивиту: хроническое продуктивное воспаление с очаговым скоплением лейкоцитов в просвете мелких сосудов с частично десквамированным многослойным плоским эпителием. В последующие периоды наблюдения состояние пациента стабильное, острота зрения 0,4, связанная с частичным помутнением хрусталика. На месте удаленной меланомы отмечается истончение склеры, умеренное расширение эписклеральных сосудов в нижнем отделе. Признаков продолженного роста не наблюдается. Период наблюдения 7 лет.

Случай 2. Больная С. А. 76 лет поступила с жалобами на возобновившейся рост пигментного образования в области нижнего свода правого глаза. Пациентка считает себя больной с лета 2017 г., когда впервые заметила новообразование темного цвета в области нижнего свода. В ноябре 2017 г. операция: иссечение новообразования по месту жительства с гистологическим заключением: микрогистиоцитомы (ангиофиброматоз). Через 2 месяца отметила повторный рост, который существенно ускорился в течение 6-и последних месяцев, особенно последнего месяца. Новообразование расположено в средней трети нижнего свода в виде выступающей дольчатой структуры размером 14x6x8 мм. При пересмотре блоков выявлена гистологическая картина солидно содержащей опухоли с высоким потенциалом злокачественности. Для верификации выполнена иммуно-гистохимическое исследование: гистологическое строение и иммунофенотип опухоли соответствуют меланоме. Выполнен сеанс стереотактической радиохирургии гамма-нож с фиксацией нижнего века правого

глаза. Доза облучения в изоцентре опухоли составила 60 Гр, по периферии 30 Гр. Через 4 суток выполнена операция: лазерная эксцизия новообразования свода с пластикой местными тканями и аллоплантом. Взят мазок-отпечаток послеоперационного ложа на цитологическое исследование: опухолевых клеток не обнаружено. Ложе обработано раствором 0,03 % раствором митамидина «С». Раневой дефект закрыт местными тканями с использованием аллопланта «ЛитАР» для восстановления контура нижнего свода. Опухоль представлена структурами солидной опухоли из полигональных, округлых, местами веретеновидных клеток с полиморфизмом, гиперхроматозом ядер, выраженным содержанием пигмента: смешано-клеточная меланома конъюнктивы глаза с выраженным содержанием пигмента и высокой митотической активностью. В послеоперационном периоде наблюдали умеренно выраженное лучевое поражение в течение 2-3-х месяцев. В настоящее время состояние пациентки стабильное, глаз спокоен, острота зрения 0,7, поле зрения и внутриглазное давление в норме. Отмечается легкое укорочение свода в наружном отделе на месте удаленной меланомы и незначительные нежные слабо-пигментные образования конъюнктивы в нижних отделах. Срок наблюдения 5 лет.

Результаты: У вышеуказанных пациентов в раннем послеоперационном периоде (от 3 до 4-х месяцев) наблюдали умеренно выраженные лучевые поражения. У пациента с ЭМ в отдаленном периоде отмечалось ограниченное пигментное разрастание конъюнктивы в прелимбальной области и потребовало дополнительного лазерно-инструментального вмешательства с верификацией, что не подтвердило наличие злокачественных (опухолевых) клеток. Выявленные слабо-пигментные образования конъюнктивы у пациентки с меланомой свода продолженного роста в отдаленном периоде при динамической фоторегистрации не показали увеличения размеров и толщины этих образований. У обоих пациентов получены высокие функциональные результаты от 0,3 до 0,7. Признаков продолженного роста и генерализации процесса не выявлено.

Выводы: Комбинированное лечение (облучение на гамма-ноже с последующей лазерной эксцизией ЭМ) показало свою эффективность при лечении большой ЭМ конъюнктивы и конъюнктивы свода даже после продолженного роста.

Список литературы:

1. Андрейченко А.М. Меланома конъюнктивы: особенности клинического течения. Автореферат диссертации на соискание степени кандидата медицинских наук, Москва, 2014. – 21 с.
2. Бородин Ю.И., Вальский В.В. Изменение остроты зрения у больных, леченных методом протонотерапии по поводу злокачественных опухолей придаточного аппарата глаза. Офтальмохирургия № 1 2010. С.35-38.
3. Бровкина А.Ф. Лучевая терапия в лечении опухолей органа зрения // РМЖ «Клиническая Офтальмология». 2003. №1. С. 15
4. Лучевая терапия: учебное пособие для слушателей факультетов усовершенствования врачей / М.А. Асатурян, В.Ф. Бартова, А.Н. Кишковский, И.М. Коробкова. Под ред. В.М. Черемисина. – СПб.: ВМедА. 1995. – 107 с.
5. Трояновский Р.Л., Гацу А.Ф., Авдеев П.А. Применение лазеркоагуляции при хирургии рецидивирующих эпибульбарных меланом. Актуальные вопросы офтальмологии. Сборник трудов научно-практической конференции, посвященной 170-летию Московской офтальмологической клинической больницы. М.: АОЗТ «Ариант», 1996. - Часть II. – С.-192-193.
6. Brownstein S. Malignant Melanoma of the Conjunctiva. // Cancer Control, 2004. – Vol. 11. – No. 5. – P. 310-316
7. Folberg R, McLean IW, Zimmerman LE: Primary acquired melanosis of the conjunctiva. Hum Pathol 16:129-135, 1985
8. Folberg R, McLean IW, Zimmerman LE: Malignant melanoma of the conjunctiva. Hum Pathol 16:136-143, 1985
9. Combined treatment of large epibulbar melanoma with γ -knife stereotactic radiosurgery
10. Paridaens AD1, Minassian DC, McCartney AC, Hungerford JL. Prognostic factors in primary malignant melanoma of the conjunctiva: a clinicopathological study of 256 cases. Br J Ophthalmol. 1994 Apr;78(4):252-259.
11. Seregard S: Conjunctival melanoma. Surv Ophthalmol 1998;42(4):321-350.
12. Shields CL, Shields JA, Gu'ndu' z K, et al: Conjunctival melanoma: Risk factors for recurrence, exenteration, metastasis, and death in 150 consecutive patients. Arch Ophthalmol 2000;118:1497-1507.
13. Thomas J., Colbi C. Ocular surface neoplasia . Ophthalmology 2007;6(5):1-7.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭПИРЕТИНАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРОУРОКИНАЗЫ В СОЧЕТАНИИ С «МАССАЖЕМ» РЕТИНАЛЬНЫХ ВЕН ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОМБОЗА ЦЕНТРАЛЬНОЙ ВЕНЫ СЕТЧАТКИ И ЕЕ ВЕТВЕЙ

Крылова А.А., Кривошеина О.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

Аннотация. Тромбоз центральной вены сетчатки является социально-значимым заболеванием, потенциально приводящим к инвалидизации пациентов вследствие развития слабовидения и слепоты. Существующие методы лечения данной патологии не всегда обеспечивают высокие клинико-функциональные результаты после их проведения и опасны возможным развитием осложнений. Целью представленной работы являлась оценка эффективности нового хирургического метода лечения окклюзии вен сетчатки, заключающегося в эпиретинальном введении проурокиназы и проведении «массажа» пораженной ветви ЦВС. При анализе полученных данных выявлено, что введение проурокиназы в сочетании с «массажем» тромбированного сосуда за счет воздействия на основное звено патогенеза - тромб и активации фибринолиза, позволяет ускорить резорбцию геморрагий и отека сетчатки в 1,5-2,0 раза, а восстановление зрительных функций и показателей биоэлектрической активности сетчатки – в 4,0 раза и более по сравнению с пациентами группы сравнения, которым выполняли эпиретинальное лечение тромбоза ретинальных вен на фоне консервативной терапии.

Ключевые слова: тромбоз вен сетчатки, «массаж» ретинальных вен, рекомбинантная проурокиназа, ферментный тромболитис.

EFFICIENCY OF EPIRETINAL PROUROKINASE INJECTION IN COMBINATION WITH "MASSAGE" OF RETILINAL VEINS IN THE TREATMENT OF RETINAL VEIN OCCLUSION

Krylova A.A., Krivosheina O.I.

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk

Annotation. Central retinal vein occlusion is a socially significant disease, potentially leading to disability in patients due to the development of low vision and blindness. Existing methods of treating this pathology don't always provide high clinical and functional results after their implementation and are dangerous with the possible development of complications. The aim of the presented work was to evaluate the effectiveness of a new surgical method for the treatment of retinal vein occlusion, which consists in the epiretinal prourokinase injection and the "massage" of the affected branch of the CRVO. When analyzing the obtained data, it was revealed that the prourokinase introduction in combination with the "massage" of a occluded vessel due to the effect on the main link of pathogenesis - a thrombus and the activation of fibrinolysis, allows to accelerate the resorption of hemorrhages and retinal edema by 1.5-2.0 times, and the restoration of visual functions and indicators of retinal bioelectrical activity - 4.0 times or more compared with patients of the comparison group who underwent epiretinal treatment of retinal vein thrombosis against the background of conservative therapy.

Keywords: retinal vein occlusion, retinal vein "massage", prourokinase, enzymatic thrombolysis.

Актуальность. Тромбоз центральной вены сетчатки (ЦВС) и ее ветвей является социально-значимым заболеванием, занимающим второе место в структуре инвалидности по заболеваниям органа зрения после диабетической ретинопатии [1]. В настоящее время наблюдается тенденция к росту заболеваемости окклюзией ретинальных вен среди молодых пациентов, что приводит к увеличению числа слабовидящих среди больных трудоспособного возраста [1]. Кроме того, развитие таких осложнений обтурации вен сетчатки, как кистозный макулярный отек, гемофтальм, вторичная неоваскулярная глаукома, негативно сказывается на состоянии зрительных функций пациентов в отдаленном периоде. Существующие методы лечения окклюзии вен сетчатки включают в себя местное применение фибринолитиков, интравитреальное введение ингибиторов ангиогенеза, имплантов с глюкокортикостероидами, лазеркоагуляцию сетчатки, однако перечисленные способы лечения порой требуют многократного повторения процедуры и могут привести к таким осложнениям, как офтальмогипертензия, гемофтальм [2, 3, 4]. Медико-социальная значимость заболевания и рост инвалидности среди молодых пациентов подчеркивает актуальность разработки нового способа лечения тромбоза ЦВС и ее ветвей.

Цель исследования – оценить эффективность нового хирургического метода лечения окклюзии ЦВС путем эпиретинального введения проурокиназы в сочетании с «массажем» пораженного сосуда.

Материалы и методы исследования. Клиническое исследование проведено среди 96 пациентов (96 глаз) с окклюзией вен сетчатки, которые были разделены на 2 группы в зависимости от используемого лечения: основная группа (47 человек, 47 глаз), лечение которых заключалось в эпиретинальном введении 500 международных единиц (МЕ) проурокиназы с последующим «массажем» пораженного сосуда; группа сравнения (49 человек, 49 глаз), которым выполняли эпиретинальное введение 500 МЕ проурокиназы на фоне консервативного лечения. Все пациенты были сопоставимы по полу и возрасту. Средний возраст пациентов составил 63,0±2,5 лет.

Критериями включения пациентов в данное исследование являлся нешемический тромбоз вен сетчатки, произошедший за 1-6 дней до проводимого лечения, а также возраст больного старше 18 лет. Критериями исключения служили рецидив окклюзии вен сетчатки, посттромботическая ретинопатия, сопутствующая патология органа зрения со стойким снижением зрительных функций, беременность и лактация.

Новый хирургический метод лечения тромбоза ЦВС

Эпиретинальное введение проурокиназы с последующим «массажем» пораженного сосуда сетчатки у пациентов основной группы проводилось на 2-й день госпитализации больных в офтальмологический стационар. Пациентам за 30 минут до операции для достижения медикаментозного мириаза инстиллировали мидриатики (тропикамид 1%). Через 15 минут для достижения анестезии выполняли трехкратную инстилляцию анестетиков (алкаин 0,5%). Непосредственно перед вмешательством разводили 5000 МЕ проурокиназы в 1,0 мл изотонического раствора хлорида натрия, после чего в стерильный инсулиновый шприц набирали 0,1 мл получившего раствора, содержащего 500 МЕ препарата. Иглу шприца заменяли на стерильную иглу 0,5×25 мм, калибра 25G. В условиях операционной проводили стандартную обработку операционного поля с соблюдением правил асептики и антисептики, затем накладывали векорасширитель. При помощи троакаров устанавливали 2 склеральных порта 25G в 4,0 мм от лимба в верхне-наружном и верхне-внутреннем квадрантах глазного яблока, в которые вводили эндоосветители и ранее подготовленную иглу, надетую на шприц с разведенной проурокиназой. Используя витреоретинальную микрохирургическую систему, иглу вводили в эпиретинальное пространство максимально близко к тромбированной вене сетчатки, после чего вводили препарат. Затем иглу заменяли на скраппер, силиконовым наконечником которого выполняли 5-7 касательных движений вдоль обтурированной ретинальной вены в течение 30 секунд. После операции инструмент и осветитель извлекали из витреальной полости, удаляли склеральные порты, контролировали герметичность склеральных разрезов. Затем субконъюнктивально вводили антибиотик широкого спектра действия и накладывали монокулярную повязку на сутки. На следующий день назначали инстилляцию антибиотика и глюкокортикостероида 4 раза в день в течение 7 дней.

Пациенты основной группы дали добровольное информированное согласие на проведение лечения.

Эпиретинальное введение проурокиназы у пациентов группы сравнения

Эпиретинальное введение 500 МЕ проурокиназы больным группы сравнения выполнялось по описанной выше методике на 2-й день после госпитализации в офтальмологический стационар с последующим консервативным лечением в виде парабульбарных инъекций 0,5 мл 0,4% раствора дексаметазона и 750 МЕ гепарина, внутривенного введения раствора пентоксифиллина, реополиглюкина.

Пациентам обеих групп выполняли визометрию, периметрию, биомикроскопию, офтальмоскопию на 1, 3, 7, 14, 30 день после госпитализации и через 3, 6, 9, 12 месяцев. Оптическую когерентную томографию (ОКТ) центральных отделов сетчатки и электрофизиологические исследования сетчатки и зрительного нерва выполняли при поступлении и через 1,3,6,9,12 месяцев. Коагулограмму оценивали в 1-й и 14-й день поступления в стационар. Срок наблюдения составил 12 месяцев. Статистическую обработку данных выполняли при помощи программы IBMSPSSStatistics 20. Нормальность распределения определялась при помощи теста Шапиро-Уилка. При нормальном распределении различия данных использовали t-критерий Стьюдента. Для описания непараметрических данных применяли критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования. При поступлении всем пациентам с окклюзией вен сетчатки выполняли визометрию, которая показала, что до начала лечения острота зрения при поражении ствола ЦВС составила 0,1 [0,08; 0,2]. На 7-й день после проведенного лечения данный показатель у пациентов основной группы с окклюзией ствола ЦВС улучшился до 0,2 [0,1; 0,3], тогда как у пациентов группы сравнения составил 0,15 [0,09; 0,25]. Через 30 дней после проведенного лечения

острота зрения у пациентов основной группы увеличилась до 0,4 [0,2; 0,55] ($p=0,033$), в группе сравнения – до 0,3 [0,15; 0,4] ($p=0,026$). Кроме того, в основной группе в течение всего времени наблюдения (12 мес.) отмечался дальнейший прирост остроты зрения – до 0,5 [0,35; 0,62] ($p=0,043$), чего не происходило в группе сравнения.

Положая положительная динамика наблюдалась и у пациентов с тромбозом ветви ЦВС. До лечения острота зрения пациентов с поражением ретиальной вены составляла 0,3 [0,2; 0,55] ($p=0,032$). Через 7 дней после проведенного лечения отмечен прирост остроты зрения у больных обеих групп, однако более выраженные изменения наблюдались у пациентов основной группы. Так, острота зрения у пациентов основной группы через 1 неделю после лечения составила 0,5 [0,35; 0,75] ($p=0,029$), а через 1 месяц - 0,65 [0,45; 0,8] ($p=0,047$), тогда как в группе сравнения - 0,4 [0,2; 0,55] ($p=0,031$), и 0,45 [0,25; 0,6] ($p=0,021$) соответственно. В отдаленном периоде (3-12 месяцев) наблюдалось дальнейшее улучшение данного показателя, однако полученные данные не были статистически значимыми.

Данные объективного осмотра также подтвердили эффективность и безопасность нового хирургического метода лечения окклюзии ЦВС. При проведении офтальмоскопии в 1-й день госпитализации у всех пациентов с обтурацией ЦВС обнаруживались отек диска зрительного нерва, выраженное расширение и извитость пораженных вен, геморрагии по ходу пораженных сосудов. На фоне лечения у пациентов основной группы уже через 14 дней [11,0; 15,0] ($p=0,022$) после проведенного лечения отмечалось уменьшение отека центральных отделов сетчатки и рассасывание кровоизлияний, тогда как у пациентов группы сравнения вышеописанные изменения происходили лишь на 18 [17,0; 23,0] день от начала лечения ($p=0,002$).

Данные офтальмоскопии подтверждались результатами ОКТ сетчаткибольшого глаза: у пациентов основной группы через 7 дней после проведенного лечения толщина макулярной сетчатки составляла 389,0 мкм [278,0; 467,0] ($p=0,043$) при исходных значениях 455,0 мкм [293,0; 491,0]. У пациентов группы сравнения толщина центральных отделов сетчатки до лечения достигала 463,0 мкм [291,0; 465,0], через 7-й дней сократившись до 423,0 мкм [281,0; 459,0] ($p=0,031$). В отдаленном периоде наблюдений отмечалось дальнейшее уменьшение толщины сетчатки в макулярной области с достижением нормальных показателей у пациентов основной группы ($p=0,027$).

Сравнительный анализ данных периметрии также выявил положительную динамику изменений полей зрения у пациентов обеих групп. Уже на 7-й день после проведения оперативного лечения у пациентов основной группы суммарный показатель периметрии увеличился в 2,1 раза ($p=0,043$) от первоначального уровня, тогда как в группе сравнения – в 1,39 раза от исходного значения ($p=0,029$). Площадь скотом в основной группе сократилась в 1,54 раза ($p=0,026$) от полученных до лечения данных, в группе сравнения – в 1,11 раза ($p=0,045$). Через 1 месяц после лечения суммарный показатель периметрии достиг максимального значения в обеих группах, однако в основной группе данный показатель увеличился в 2,45 раза от исходного ($p=0,044$), в группе сравнения - в 1,9 раза от первоначального уровня ($p=0,027$). Через 30 дней после оперативного вмешательства дефекты поля зрения уменьшились в 2,21 раз в основной группе ($p=0,041$) и в 1,76 раза – в группе сравнения ($p=0,036$).

При оценке данных показателей биоэлектрической активности сетчатки также выявлена положительная динамика: уже на 14-й день после лечения у 72,2% пациентов основной группы амплитуда волны *a* увеличилась в 3,05 раза ($p=0,041$), волна *b* - в 4,21 раза ($p=0,033$) от исходного уровня. У пациентов группы сравнения данные показатели повысились в 2,25 раза ($p=0,029$) и в 3,46 раза ($p=0,022$) соответственно.

Анализ результатов проведенных исследований позволяет оценить и риски развития интра- и послеоперационных осложнений в ходе применения нового хирургического метода лечения тромбоза ЦВС. Учитывая, что в ходе вмешательства выполняется механический «массаж» пораженной ретиальной вены, возникает вопрос об тромбоземболических осложнениях, в частности, тромбоземболии легочной артерии. Однако, значительная разница диаметра ретиальных вен и сосудов малого круга кровообращения позволяет минимизировать возможность развития данного осложнения, что было подтверждено результатами клинического исследования: ни у одного из пациентов основной группы не было выявлено развития тромбоземболии. Также необходимо отметить, что у пациентов обеих групп отсутствовали такие осложнения, как гемофтальм, эндофтальмит, отслойка сетчатки, встречающиеся в 5-25% случаев операции на заднем отрезке глаза.

Вывод. Эффективность эпиретиального введения проурокиназы в сочетании с «массажем» пораженного сосуда, подтвержденная улучшением зрительных функций и биоэлектрической активности сетчатки при тромбозе ЦВС, обусловлена воздействием на основное звено патогенеза заболевания – тромб – за счет ферментного тромболитика и щадящего механического воздействия на сосудистую стенку. Проведенное исследование также подтвердило

безопасность предлагаемого метода лечения обтурации вен сетчатки, что позволяет рекомендовать его для использования в клинической практике.

Список литературы.

1. Пузин С.Н. и др. Анализ контингента инвалидов вследствие болезней глаза с учетом нозологической формы в Российской Федерации. Вестник Всероссийского общества специалистов по медико-социальной экспертизе, реабилитации и реабилитационной индустрии. 2019; 2: 41-46.
2. Бикбов М.М. и др. Особенности действия импланта с дексаметазоном при окклюзии вен сетчатки. Офтальмохирургия. 2018; 2: 46-50.
3. Каменских Т.Г., Батищева Ю.С., Гилева Е.В., Колбенив И.О. Клинико-функциональная оценка эффективности лечения макулярного отека на фоне тромбоза центральной вены сетчатки и ее ветвей. Офтальмохирургия. 2019; 2: 56-62.
4. Худяков А.Ю., Сорокин Е.Л. Причины рецидивирующего гемофтальма у пациентов с тромбозами ветви центральной вены сетчатки после A-VGF терапии, их устранение. Современные технологии в офтальмологии. 2018; 2: 134-136.

ОЦЕНКА СОЗРЕВАНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА И ДИАГНОСТИКА ПОСТГИПОКСИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ МЕТОДОМ РЕГИСТРАЦИИ ЗРИТЕЛЬНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ

Хаценко И.Е., Данилова О.М., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М.

ГБУЗ «Морозовская детская клиническая больница» ДЗМ

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава
России

Аннотация: впервые в нашей стране проводится оценка созревания зрительного анализатора у глубоко недоношенных детей без явных неврологических нарушений. Впервые оценивается острота зрения недоношенных детей без ретинопатии (РН) методом регистрации паттерн зрительных вызванных потенциалов. Впервые проводятся параллели между сохранностью ЗВП и выраженностью постгипоксических изменений головного мозга у недоношенных детей без РН.

Ключевые слова: новорожденные, доношенные, недоношенные, зрительные вызванные потенциалы, созревание зрительной системы.

Assessment of the maturation of the visual analyzer and diagnosis of posthypoxic changes in the brain in premature infants by registering visual evoked potentials.

Khatsenko I.E., Danilova O.M., Balashova L.M., Salmasi G.M.

Morozov Children's City Clinical Hospital.; National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Abstract: for the first time in our country, the assessment of the maturation of the visual analyzer in deeply premature infants without obvious neurological disorders is carried out. Visual acuity of premature infants without retinopathy (PH) is evaluated for the first time by registering a pattern of visual evoked potentials. For the first time, parallels are drawn between the safety of the SVP and the severity of posthypoxic brain changes in premature infants without PH.

Keywords: newborns, full-term, premature, visual evoked potentials, maturation of the visual system.

Введение

Диагностика глазных болезней у детей раннего возраста является сложной задачей. Трудности интерпретации офтальмоскопической картины, обусловленные особенностями глазного дна у младенцев, невозможность использования традиционных психофизических методов исследования приводят к поздней диагностике заболеваний зрения, что в свою очередь снижает эффективность лечебно-коррекционных мероприятий. Острота зрения является одной из главных функций, обеспечивающих восприятие объектов внешнего мира. (А.И. Коган, 1971). У детей старше трех лет остроту зрения определяют с помощью специальных таблиц, требующих ответа ребенка о том, что он видит. Оценка остроты зрения у детей раннего возраста является сложной задачей из-за невозможности использования у них традиционных субъективных методов исследования. Вероятно этим, отчасти, объясняется противоречивость данных о ее созревании в раннем онтогенезе.

Одним из объективных методов определения остроты зрения является регистрация зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на структурированные стимулы. Это один из самых информативных методов исследования функциональной активности зрительного анализатора у детей, позволяющий оценить степень развития зрительной системы, особенности проведения возбуждения по зрительному пути от сетчатки до коры головного мозга, степень и уровень поражения

В связи с этим была поставлена задача оценить развитие зрительного анализатора и исследовать остроту зрения у доношенных и недоношенных детей раннего возраста с помощью регистрации ЗВП на шахматные паттерны (ШП) с низкой частотой реверсии контраста (2 в сек.) и размером ячеек ШП 4; 2; 1; 0,3 градуса, соответствующих остроте зрения 0,005; 0,01; 0,02; 0,04. Острота зрения оценивалась по пороговому ЗВП. Учитывая, что на пороговые стимулы ЗВП плохо выделяется из фоновой ритмики, пороговый размер ячеек определяли как средний между минимальным размером ячеек, вызывающим ЗВП, и следующим более малым размером ячеек, на который реакция отсутствовала.

Материал и методы исследования:

Обследовано 142 детей в возрасте от 3 месяца до 2 лет. Из них — 70 детей – доношенных, 72 детей недоношенных. Все недоношенные дети от преждевременных родов с гестационным возрастом (ГВ) от 28 до 34 недель (в среднем $30,7 \pm 0,49$ недель) и массой тела от 640 до 2210 г (в среднем $1425 \pm 38,98$ г). Из них 53 чел. без РН, 19 детей после интравитреального введения ингибиторов ангиогенеза. Для изучения закономерностей формирования зрительной перцептивной системы использовался объективный метод регистрации ЗВП, позволяющий исследовать прием и переработку сенсорной информации на корковом уровне. ЗВП регистрировали на специализированном приборе «EP-1000Pro» фирмы TOMЕУ (Германия/Япония Активный электрод располагали по средней линии на 2 см. выше затылочного бугра, индифферентный — на мочке уха, заземляющий — на лбу. Стимулами являлись гомогенное световое поле и 4 изображения шахматных полей размером 12×14 угловых градусов, предъявляемые в режиме реверсии контраста с частотой 2 в секунду соответственно. Размер элементов, составляющих шахматные поля, был равен 4; 2; 1; 0,3 градуса. Контраст черно-белого паттерна — 80%, средняя освещенность — 90 лк.

Запись ЗВП проводили бинокулярно при одинаковой клинической картине обоих глаз и монокулярно при различном состоянии правого и левого глаза. Ребенок сидел на коленях у родителя на расстоянии 80 см от монитора, с помощью которого предъявляли зрительные стимулы. Запись ЗВП проводили только в том случае, если ребенок был спокоен и фиксировал взгляд на стимуле. Все дети до регистрации ПЗВП прошли стандартный офтальмологический осмотр включавший (определение рефракции на высоте циклоплегии, положение глаз, прямую и обратную офтальмоскопию). Оценивали конфигурацию ПЗВП, амплитуду (А) компонента и латентность (L) компонента P100 как наиболее устойчивого.

Амплитуда и латентность пика P100 на различный размер шахматных паттернов у обследуемых детей представлены в Таб. 1. При регистрации ПЗВП у доношенных детей (Гр.1) в 6 и 12 мес. получены устойчивые ответы на все размеры ШП(4; 2; 1; 0,3°), которые практически не отличались по L и A в 6 и 12 мес. Это позволяет предположить, что к 6 месяцам жизни у доношенных детей, в основном, завершается созревание зрительных путей, в частности, миелинизация их волокон. В Гр.2 ответы на ШП, в отличие от Гр.1, в 6 месяцев были упрощенной конфигурации, увеличенной латентности и сниженной амплитуды на клетки 1° и 0,3°.

Таблица 1. Средние значения амплитуды компонента P100 ЗВП на шахматный паттерн доношенных и недоношенных детей в 6 и 12 мес.

Размер ШП Группы	4°		2°		1°		0,3°	
	A(мкВ)	L(мс)	A(мкВ)	L(мс)	A(мкВ)	L(мс)	A(мкВ)	L(мс)
Гр.1(6 мес.)	18,2±4, 1	107,0±2,0	19,4±3, 8	111,3±3,2	23,6±4,6	115,8±3,4	17,1±5,1	126,3±4,8
Гр.2(6 мес)	15,4±3, 5	115,4±2,1	16,8±4, 4	118,2±2,4	10,2±3,2*	131,6±5,1 *	3,1±2,9*	138,3±3,9 *
Гр.3(6 мес)	6,8±2,8 *	135,2±10,1*	7,4±6,1*	141,1±7,4*	2,1±2,0*	140,2±9,4 *	---	---
Гр.1(12 мес)	20,6±4, 6	105,6±2,3	22,8±3, 8	110,1±3,6	25,1±4,4	115,1±2,9	18,5±3,9	124,2±4,6
Гр.2(12 мес)	18,9±3, 9	108,9±3,3	20,4±4, 1	109,4±3,1	23,8±5,1	116,4±3,4	16,6±3,3	128,2±5,2
Гр.3(12 мес)	7,6±2,2 *	127,6±11,8*	7,1±2,9* *	130,7±11,2 *	4,6±2,6*	138,3±8,2 *	---	---

*достоверность различий между группами по сравнению с гр.1.

В 12 месяцев в Гр.2 ответы на данные размеры ШП приближаются по латентности и амплитуде к доношенным детям. Полученные факты подтверждают, что у глубоко недоношенных детей в период с 6 месяцев не сформированы макулярная и фовеолярная области сетчатки, и не завершено формирование зрительных путей. Эти процессы заканчиваются, по нашим данным, к 12 месяцам. В Гр.3 в 6 месяцев ВП регистрировался только на крупные клетки (4; 2°). Увеличены по латентности до 20 мс, по сравнению с Гр.1-2, резко снижены по амплитуде.

При регистрации ЗВП в 12 месяцев в Гр.3 показатели латентности и амплитуды на все размеры ШП не претерпевали существенных изменений.

Как принято считать ЗВП на малые и большие размеры ячеек ШП отражают активность разных подсистем зрения. Одна из них — медленнопроводящая (парвоцеллюлярная), другая — быстропроводящая (магноцеллюлярная) подсистема. Первая — отдает предпочтение высоким пространственным частотам и осуществляет тонкий детальный анализ зрительного стимула. Другая — быстропроводящая (магноцеллюлярная) подсистема — имеет большие рецептивные поля, расположенные в периферической области сетчатки и ее подкорково-корковой проекции, оптимально реагирует на низкие пространственные частоты и производит грубую интегративную оценку зрительного стимула.

Выводы:

1. Регистрация ПЗВП позволяет объективно оценить развитие зрительного анализатора у детей первого года жизни.
2. К 6мес. жизни развитие зрительного анализатора у глубоко недоношенных детей отстает от доношенных сверстников и приближается к норме только к 12 мес.
3. Регистрация ПЗВП позволяет своевременно выявить постгипоксические изменения зрительного анализатора и оценить сохранность зрительных функций у таких детей.

Список литературы:

1. Гнездицкий, В. В. Опыт применения вызванных потенциалов в клинической практике / В. В. Гнездицкий, А. М. Шамшинова. – Москва: Научно-медицинская фирма «МБН», 2001. – 473 с.
2. Коголева, Л. В. Клинико-функциональное состояние глаз у глубоко недоношенных детей в отдаленный период / Л. В. Коголева // Российская педиатрическая офтальмология. – 2014. – Т. 9, №3. – С. 14-20.
3. Электрофизиологические методы исследования в обследовании недоношенных детей и диагностике ретинопатии недоношенных / Е. И. Сидоренко [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2002. – № 1. – С. 35-39. 143.
4. Фильчикова Л.И., Дубовская Л.А., Крюковских О.Н., Мишустин А.В., Пугачев А.И. // Зрительные вызванные потенциалы в оценке остроты зрения у детей грудного возраста. // Вестник офтальмологии. – 1995. - № 3. – С. 28-30.

ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПРИ СИНДРОМЕ «СУХОГО ГЛАЗА» У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Москалец О.В.¹, Мусаев П.И.², Рябцева А.А.¹, Ализаде Г.Х.¹, Акберова С.И.³

¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского», г. Москва.

²Азербайджанский медицинский университет, кафедра офтальмологии, г. Баку,

³Медицинский центр «Медквадрат», г. Москва

Аннотация.

Цель. Изучение влияния 0,007% раствора ПАБК в форме лекарственного препарата Актипол-М на воспалительный процесс на основании оценки уровня sIL-6R и НЭ в слезной жидкости (СЖ), при синдроме «сухого глаза» (ССГ) у больных сахарным диабетом (СД).

Материал и методы. Обследовано 30 пациентов (60 глаз) с СД 1-го и 2-го типов в возрасте от 35 до 70 лет, с диагнозом ССГ. Пациенты получали Актипол-М капли глазные в течении одного месяца. В СЖ определяли содержания НЭ (10 пациентов, 20 глаз) и sIL-6R (20 пациентов, 40 глаз). Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы 10 человек (20 глаз). Количественное определение содержания sIL-6R и НЭ проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. У пациентов выявлено более высокое содержание sIL-6R (10974,8±1228,5 пкг/мл) и НЭ (3,85±0,13 нг/мл), по сравнению с контрольной группой (4,6±0,7 пкг/мл и 0,22±0,08 нг/мл соответственно). Через 1 мес. после начала лечения достоверное снижение данных показателей наблюдалось у всех пациентов и в обоих глазах: в среднем на 80,5% содержание sIL-6R и на 58,7% НЭ.

Заключение. ПАБК 0,007% в лекарственной форме капли глазные Актипол-М оказывает противовоспалительное действие, подавляя продукцию sIL-6R и НЭ в СЖ при ССГ у больных с СД.

Ключевые слова: парааминобензойная кислота, синдром сухого глаза, сахарный диабет, воспаление, нейтрофильная эластаза, растворимый рецептор к интерлейкину-

THE INFLAMMATORY PROCESS AND ITS CORRECTION IN THE "DRY EYE" SYNDROME IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS. O.V. Moskalets¹, P. I. Moussaev², A. A. Ryabtseva¹, G.KH. Ali-Zade¹, S.I. Akberova³

1. Moscow Regional Research Clinical Institute ("MONIKI") n.o. M.F.Vladimirsky, Moscow, 2. Azerbaijan Medical University, Department of Ophthalmology, Baku. 3. Medical center "Medkvadrat", Moscow.

Abstract

Purpose. To study the effect of 0.007% PABA solution in the form of the drug Aktipol-M on the inflammatory process according to the level of sIL-6R and NE in the lacrimal fluid (LF), with dry eye disease (DED) in patients with diabetes.

Material and methods. Thirty patients (60 eyes) with type 1 and 2 diabetes, aged 35 to 70 years, with a diagnosis of DED were examined. The patients received Aktipol-M eye drops for one month. The content of NE (10 patients, 20 eyes) and sIL-6R (20 patients, 40 eyes) was determined in the LF. The control group consisted of 10 healthy volunteers (20 eyes). The quantitative determination of the content of sIL-6R and NE was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. Patients had high levels of sIL-6R (10974.8 ± 1228.5 pg / ml) and NE (3.85 ± 0.13 ng / ml), compared with the control group 4.6 ± 0.7 pg / ml ($P < 0.001$) and 0.22 ± 0.08 ng / ml ($P < 0.001$), respectively. One month after treatment, a significant decrease was observed in all patients and in both eyes: on average, 80.5% sIL-6R content and 58.7% NE.

Conclusion. PABA 0.007% in the dosage form of eye drops Aktipol-M has an anti-inflammatory effect, suppressing the production of sIL-6R and NE in the LF in DED in patients with diabetes.

Key words: para-aminobenzoic acid, dry eye disease, diabetes mellitus, inflammation, neutrophilic elastase, soluble interleukin-6 receptor.

Актуальность.

Синдром сухого глаза (ССГ) является одной из самых распространенных патологий передней поверхности глазного яблока. У больных сахарным диабетом (СД) ССГ встречается в 15 – 54% случаев [1,2]. Согласно принятому определению (DEWSII 2017 г.), ССГ представляет собой многофакторное заболевание глазной поверхности, характеризующееся нарушением гомеостаза слезной пленки и сопровождающееся офтальмологическими симптомами, в развитии которых этиологическую роль играют нарушение стабильности, гиперосмолярность слезной пленки, воспаление и повреждение глазной поверхности, а также нейросенсорные изменения [21].

Для оценки воспаления как одного из ведущих патогенетических звеньев ССГ [3], развивающегося по принципу «воспалительного порочного круга» [22], используют разнообразные лабораторные маркеры: белки острой фазы, цитокины, молекулы клеточной адгезии, протеолитические ферменты и др. Среди них интерлейкин-6 (IL-6) относится к ключевым провоспалительным цитокинам. Он синтезируется многими типами клеток, в том числе и кератоцитами, участвующими в инициации и регуляции воспаления. Его высокоаффинный рецепторный комплекс состоит из 2 субъединиц, одна из которых (IL-6R, или gp80) специфична только для этого цитокина, а другая (gp130) – для всех цитокинов, принадлежащих к семейству IL-6. В отличие от многих других интерлейкинов, данный цитокин может активировать клетки-мишени 2 путями. Классический заключается во взаимодействии IL-6 с мембранным комплексом gp80 / gp130. При альтернативном пути IL-6 сначала взаимодействует с растворимой формой gp80 (sIL-6R), которая образуется посредством альтернативного сплайсинга мРНК или сливается с клеточной мембраны под воздействием металлопротеаз, а затем комплекс IL-6 / sIL-6R связывается с gp130. Этот феномен называют трансигналингом. Трансигналинг IL-6, активируя клетки-мишени (в том числе кератоциты), инициирует и регулирует воспалительную реакцию.

Следует подчеркнуть, что обычно при связывании цитокина с растворимым лигандом запускается механизм отрицательной обратной связи, т.к. растворимая форма рецептора конкурирует с его мембранной формой за связывание с цитокином. Однако, в случае с IL-6 такого не происходит: его растворимая форма выступает в качестве агониста.

В офтальмологии исследовалась роль IL-6 при диабетической ретинопатии, увеитах, катаракте, глаукоме. Содержание IL-6 увеличивается в слезной жидкости (СЖ) после травм, возникших после ношения контактных линз и после других механических воздействий, УФ – облучении, при кератоконусе, вирусных конъюнктивитах, герпетических кератитах, при ССГ и др. [4,5]. Растворимая форма IL-6R (sIL-6R) при глазных болезнях изучена гораздо меньше. При синдроме Шегрена содержание sIL-6R в слезе пациентов достоверно выше, чем у здоровых лиц. При увеитах во влаге передней камеры обнаружено повышение уровня и IL-6, и sIL-6R. О выраженной корреляции между содержанием sIL-6R в слезе и степенью тяжести сезонного аллергического кератоконъюнктивита сообщают Shoji J. et al. [5]. В слезе пациентов с ССГ выявлено достоверное повышение содержания IL-6 и sIL-6R, а также ряда других цитокинов, их растворимых рецепторов и хемокинов. При этом отмечалась существенная корреляция между данными показателями и степенью тяжести заболевания [6].

Нейтрофильная эластаза (НЭ) – это основная сериновая протеаза у человека, которая содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов. Высвобождаясь при воспалении в результате гибели или активации нейтрофилов, этот фермент

может вызывать серьезное повреждение окружающих тканей [7]. При воспалении или травме, когда проницаемость сосудистой стенки нарушается, количество лейкоцитов во влаге передней камеры и СЖ существенно увеличивается, соответственно, многократно возрастает и содержание эластазы [8,9]. Кроме того, она может высвобождаться из клеточных элементов роговицы и конъюнктивы [10,11]. Содержание эластазы в СЖ увеличивается при таких патологиях глаза как травмы, увеиты, ССГ, в том числе у больных СД с ССГ [12,13]. При ССГ из-за недостаточной активности нуклеаз в прекорнеальной слезной пленке накапливаются экстрацеллюлярные ДНК-ловушки (прежде всего, нейтрофильные), основным компонентом которых, как известно, является эластаза [14]. Это способствует развитию воспаления в конъюнктиве и роговице. Другим фактором, способствующим накоплению экстрацеллюлярных ДНК-ловушек при ССГ, является гиперосмолярный стресс [15].

Парааминобензойная кислота (ПАБК) в форме лекарственного препарата Актипол-М (0,007% раствор ПАБК) подавляет продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-6 в глазных тканях [4], является индуктором эндогенного интерферона (ИИФН) (16), антиоксидантом [17], обладает радиопротекторным [18], репаративным действием [19], предотвращает развитие гипоксии и индуцированного апоптоза в тканях глазной поверхности [20]. В клинической практике применяется для лечения вирусных заболеваний глаз и при кератопатиях различного генеза.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния 0,007% раствора парааминобензойной кислоты на уровни растворимого рецептора к интерлейкину 6 (sIL-6R) и нейтрофильной эластазы в слезной жидкости больных с синдромом сухого глаза, ассоциированным с сахарным диабетом.

Материалы и методы. Обследовано 30 больных СД с ССГ (60 глаз). Из них 3 мужчин и 27 женщин в возрасте от 45 до 65 лет. Анализировалась рефлекторная слеза каждого глаза. В группе пациентов исследование проводили до и после курса лечения препаратом 0,007% ПАБК, который назначали в виде инстилляций по 1 капле 3 раз в день в течение 30 дней. В качестве контроля были использованы результаты исследования СЖ 10 практически здоровых лиц (20 глаз), из которых 2 мужчин и 8 женщин в возрасте от 45 до 65 лет. Полученную СЖ центрифугировали в течение 10 мин. при 2000 оборотах в минуту, разделяли на аликвоты и хранили в полипропиленовых микропробирках при температуре минус 20⁰ С. Перед исследованием образцы размораживали при комнатной температуре и проводили количественное определение содержания sIL-6R и НЭ методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе PC Lab (Adaltis, Италия) в соответствии с инструкцией производителя. Использовались тест-системы производства «eBioscience» (Австрия) и «Nyculc Biotech» (Нидерланды).

Оценку уровня sIL-6R провели у 20 больных (40 глаз), а НЭ - у 10 пациентов (20 глаз).

Статистическую обработку данных проводили методами дисперсионного (тест ANOVA с F-критерием Фишера), вариационного (критерий Стьюдента-Бонферрони) анализа и определения непараметрических ранговых критериев (U-Mann-Whitney, Z-Wilcoxon). Для статистической оценки различий в сравниваемых группах предварительно сравнивались средние показатели и их дисперсии (по Фишеру), а также средние структурные показатели: Me – медиана; Q1 – 1-й квартиль; Q3 – 3-й квартиль по Стьюденту-Бонферрони. Далее для уточнения статистической значимости различий использованы непараметрические ранговые критерии – в независимых (U-Mann-Whitney) и зависимых (Z-Wilcoxon) выборках. В таблице указаны средние и средне-структурные показатели рядов и результаты статистического анализа непараметрических критериев.

В качестве критического порога принятия «нулевой гипотезы» в каждом статистическом анализе использовали уровень значимости $p < 0,050$. Все вычисления проводились на электронной таблице EXCEL-2013 и SPSS-20.

Результат и их обсуждение. У всех пациентов до лечения в СЖ была зарегистрировано значимое повышение содержания sIL-6R (10974,8±1228,5 пкг/мл), по сравнению с контрольной группой практически здоровых добровольцев (4,6±0,7 пкг/мл; $p < 0,001$). К моменту окончания 30-дневного курса лечения у больных отмечено значительное снижение содержания sIL-6R (2138,0±506,6 пкг/мл; $p < 0,001$) по сравнению с исходным значением. Но при этом, несмотря на снижение показателя, содержание sIL-6R, как правило, оставалось выше, чем в контрольной группе (таб.).

В среднем после лечения содержание sIL-6R в СЖ уменьшилось на 80,5% ($p<0,001$) по сравнению с исходным уровнем. При этом достоверное снижение показателя наблюдалось у всех 20 пациентов (40 глаз), причем в 11 (27,5%) глазах до результатов контрольной группы. В остальных 29 (72,5%) глазах наблюдалось снижение содержания sIL-6R от 37 до 98% от исходного уровня.

Таблица

Влияние 0,007% раствора парааминобензойной кислоты в лекарственной форме Актипол М капли глазные на содержание нейтрофильной эластазы (НЭ) и растворимого рецептора к ИЛ-6 (sIL-6R) в слезной жидкости ($M\pm m$ (min-max))

Группы	НЭ - нг/мл		sIL-6R – пкг/мл	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
(n=20 - НЭ n=40- sIL-6R)	3,85±0,13 (2,30-4,80)	2,26±0,29 (0,40-3,80)	10974,8±1228,5 (1980-30425,0)	2138,0±506,6 (0,0-13875,0)
P_u	$P<0,001$	$P<0,001$	$P<0,001$	$P=0,028$
P_z	$P<0,001$		$P<0,001$	
Контроль n=20	0,22±0,08 (0,00-0,70)		4,6±0,7 (2,0-9,0)	

Примечание: сравнение с контрольной группой проведено по U -Критерию Манна- Уитни (P_u), сравнение между показателями до и после лечения – по Z– критерию Уилкоксона (P_z)

Таким образом, в результате лечения больных 0,007% раствором ПАБК в течение одного месяца было выявлено значительное снижение содержания sIL-6R ($p<0,001$).

Аналогичная тенденция при терапии Актиполом-М наблюдалась в отношении содержания НЭ. До лечения ее уровень в СЖ обследуемых пациентов было достоверно выше по сравнению с контрольной группой (3,85±0,13 нг/мл и 0,22±0,08 нг/мл соответственно; $p<0,001$). После лечения отмечено достоверное снижение содержания НЭ до 2,26±0,29 нг/мл (или на 59,0%) по сравнению с исходным уровнем ($p<0,001$) (табл.). Это наблюдалось у всех пациентов и в обоих глазах, индивидуальный разброс составил от 10 до 88% в сравнении с исходными данными до лечения. Следует отметить, что в 40% случаев после лечения содержание НЭ было сравнимо с контрольным уровнем, а в 60% случаев оставалось выше него.

Хорошо известно, что в очаге воспаления увеличивается содержание многих гуморальных факторов, и их уровень достаточно четко характеризует течение локальной воспалительной реакции. В связи с этим, использование в качестве объекта исследования локальных биологических жидкостей представляется весьма перспективным с точки зрения информативности. Вышеизложенные результаты показали, что у больных СД с ССГ увеличивается содержание в СЖ таких

воспалительных маркеров как sIL-6R и НЭ, это согласуется и с литературными данными [5,12,13]. Применение 0,007% раствора ПАБК в форме лекарственного препарата Актипол-М глазные капли в течение одного месяца значительно снижает содержание данных лабораторных маркеров, что свидетельствует о стихании воспалительного процесса. Однако, нормализация показателей произошла только в 27,5% наблюдений в случае с sIL-6R и в 40% наблюдений в случае с НЭ. На этом основании рекомендуется продолжить лечение больных препаратом Актипол-М более одного месяца до нормализации всех объективных и субъективных клинических и лабораторных показателей.

Таким образом, изучение локальной продукции цитокинов и других лабораторных маркеров при различной патологии органов зрения расширяет наши представления об особенностях патогенеза этих заболеваний, а также позволяет применить патогенетически ориентированную терапию.

Выводы.

1. У больных ССГ на фоне сахарного диабета повышено содержание растворимой формы IL-6R (sIL-6R) и нейтрофильной эластазы (НЭ) в слезной жидкости.
2. ПАБК 0,007% в лекарственной форме Актипол-М капли глазные оказывает противовоспалительное действие, значительно снижая содержание sIL-6R и НЭ НЭ в слезной жидкости у больных с ССГ на фоне сахарного диабета.

Список литературы

1. Manaviat M. R., Rashidi M., Afkhami-Ardekani M., and Shoja M. R., "Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients," BMC Ophthalmology, vol. 8, article 10, 2008.

2. Ma A, Mak MS, Shih KC, Tsui CK, Cheung RK, Lee SH, Leung H, Leung JN, Leung JT, Van-Boswell MZ, Wong MT, Ng AL, Lee CH, Jhanji V, Tong L Association of long-term glycaemic control on tear break-up times and dry eye symptoms in Chinese patients with type 2 diabetes Clin Exp Ophthalmol. 2018 Aug; 46(6):608-615.

3. Nicolle P, Liang H., Reboussin E., Rabut C., Warcoin E. Proinflammatory markers, chemokines an enkefalin in patients suffering from dry eye disease. Int.J. Mol. Sci. 2018; 19(4):1221. DOI: 10.3390/ijms 19041221.

4. Акберова С.И., Тазулахова Э.Б., Мусаев Галбинур П.И., Мамедова В.М. Влияние пара-аминобензойной кислоты (АКТИПОЛ®) на продукцию интерлейкина-6 у больных с герпетическими кератитами. Вестник офтальмологии. - 2006. - №5 - с.23-26.

5. Shoji J, Kawaguchi A, Gotoh A, Inada N, Sawa M. Concentrations of soluble interleukin-6 receptors in tears of allergic conjunctival disease patients. Jpn. J. Ophthalmol., 2007; 51(5):332-337. DOI: 10.1007/s10384-007-0461-2.

6. Na K.S., Mok J.W., Kim J.Y., Rho C.R., Joo C.K. Correlations between tear cytokines, chemokines and soluble receptors and clinical severity of dry eye disease. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012;53(9):5443-5450. DOI:10.1067/iov.11-9417.

7. Sakata M., Sack R.A., Sathe S., Holden B., Beaton A.R. Polymorphonuclear leukocyte cells and elastase in tears. Curr Eye Res. 1997; 16(8):810-819. DOI:10/1076/ceyr.16.8810.8992.

8. Волков О.А., Нешкова Г.А., Мошетьева Л.К., Яровая Г.А. Влияние карнозина на воспалительные процессы при контузии глазного яблока. // Биомедицинская химия,-2006. Т. 52. Вып.2.- С. 188-191.

9. Хутова Ф.Т, Яровая Г.А, Кочергин С.А, Нешкова Е.А Эластазоподобная и антириптическая активность слезы пациентов с хроническими рецидивирующими увеитами при комплексном лечении с применением биоматериала Аллоплант // Российская педиатрическая офтальмология - 2008 - №2 - С 26 - 30.

10. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии // Вопросы медицинской химии. - 1990. - № 3. — С. 13 — 19.
11. Доценко В.Л., Нахикян Р.И., Соловьева Н.И., Платонова Т.К., Яровая Г.А. Протеолитические ферменты слезной жидкости как факторы патогенеза хронических язв роговой оболочки глаза // Вопросы медицинской химии. - 1990. — № 3. - С.73 — 76
12. Timothy D. Blalock; Sandra J. Spurr-Michaud; Ann S. Tisdale; Ilene K. Gipson of Membrane-Associated Mucins from Ocular Surface Epithelia // *Investigative Ophthalmology & Visual Science* May 2008, Vol.49, 1864-1871.
13. Bing Li 1, Minjie Sheng, Liqi Xie, Feng Liu, Guoquan Yan, Weifang Wang, Anjuan Lin, Fei Zhao, Yihui Chen. Tear Proteomic Analysis of Patients With Type 2 Diabetes and Dry Eye Syndrome by Two-Dimensional Nano-Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Jan 9; 55(1):177-86.
14. Sonawane S., Khanolkar V., Namavari A., Chaudhary S., Gandhi S. Ocular Surface Extracellular DNA and Nuclease Activity Imbalance: A new paradigm for inflammation in dry eye disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2012; 53(13): 8253-8263. DOI:10.1167/iops.12-10430.
15. Tiberwal S., Ivanir Y., Sarkar J., nayeb-Hashemi N., Bouchard C.S., Kim E., Jain S. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implication for dry eye disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2014; 55(12): 7961-7969. DOI: 10.1167/iops.14-15332.
16. Мусаев-Галбинур П.И., Акберова С.И., Э.Б. Гусева Т.С. и др. Влияние актипола на уровень интерферона в слезной жидкости (клинико-лабораторные исследования) Вест. Офтальмол. - 2001. - №6 - с.33-35
17. Магомедов Н.М., Мусаев Галбинур П.И., Акберова С.И. и др. Парааминобензойная кислота – биоантиоксидант // *Онтогенез*. 2000. - Т. 31. - №4. - С. 264-265.
18. Строева О.Г., Панова И.Г. Регуляция митотической активности в роговице крыс при защитном и лечебном действии парааминобензойной кислоты в опытах с рентгеновским облучением // *Изв. РАН, сер. биол.* 1999. № 5. С. 613-616.
19. Сологуб А.А., Панова И.Г., Строева О.Г. Влияние парааминобензойной кислоты на уровень пролиферативной активности в регенерирующей роговице взрослых крыс // *Онтогенез*. 1994. Т.25. - №.6. С.54-59.
20. Маркитантова Ю.В., Акберова С.И., Рябцева А.А., Строева О.Г. Влияние парааминобензойной кислоты на процессы апоптоза в конъюнктиве и эпителии роговицы взрослых крыс in vivo, после действия гипобарической гипоксии. // *Известия РАН. Серия биологическая*, 2018, № 3, с. 257–266
21. Messmer E.M. The pathophysiology, diagnosis and treatment of dry eye disease. *Dtsch Arztebl.Int*.2015;112(5):71-81. DOI:10.3238/arztebl.2015.007.
22. Baudouin Ch., Aragona P., Setten G. et al. Diagnosing the severity of dry eye: a clear and practical algorithm // *Br. J. Ophthalmol*. 2014. Vol. 98. № 9. P. 1168–1176.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ЛУЦЕНТИС» В ЛЕЧЕНИИ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Лесовой С.В.¹, Богинская О.А.¹, Балашова Л.М.^{2,3}, Салмаси Ж.М.

¹ГБУЗ «Детская городская клиническая больница им. З.А. Башляевой ДЗМ», 125373, Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Российский Национальный Исследовательский Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

³НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

Резюме

Цель: оценить возможности применения препарата «Луцентис» в монотерапии активной фазы ретинопатии недоношенных.

Материалы и методы:

На базе ГБУ ДГКБ им.З.А.Башляевой с июля 2020 года по январь 2021 года 51 ребенку с гестационным гестационным возрастом 27-33 недели была проведена операция интравитреального введения препарата «Луцентис» (Швейцария, Новартис Фарма). Критериями для отбора пациентов являлись наличие РН 1+, 2+, 3 или 3+ стадии в зоне I, 3+ стадии в зоне II и задней агрессивной РН. Операция выполнялась в условиях общей анестезии; лекарственная доза, методика и кратность введений соответствовали рекомендациям, указанным в инструкции к препарату. Операция профилактической лазерокоагуляции после интравитреального введения «Луцентис» осуществлялась при наличии показаний на лазерных установках Supra (Quantel Medical, Франция) и ЛАХТА-МИЛОН (Россия, ЛАЗЕРМЕДСЕРВИС).

Результаты: клиническая эффективность у детей с ЗАФР, РН 1 зоны, РН III стадии зоны 2 составляет 86,27%. Двукратных инъекций препарата достаточно для достижения терапевтического эффекта. Сохранение активности РН после двух введений является сигналом для смены терапии. Завершение васкуляризации отмечено в 51% случаев.

Заключение: для достижения максимального эффекта лечения РН препаратом «Луцентис» необходимо строгое соблюдение критериев отбора пациентов для интравитреального введения.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, ингибиторы ангиогенеза, «Луцентис», лазерокоагуляция сетчатки

LUCENTIS FOR TREATMENT RETINOPATHY OF PREMATURITY

S.V.Lesovoy¹, O.A. Boginskaya¹, L.M.Balashova^{2,3}, G.M.Salmasi

¹Budgetary State Children's City Clinical Hospital named after Z.A.Bashlyaeva of Moscow's Ministry of Health, 125373, Moscow, Russian Federation

²N.I. Pirogov Russian National Research University, Ministry of Health of Russia, Moscow

³International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

Abstract

Aim: to explore the efficacy of Lucentis for the retinopathy of prematurity

Materials and methods: Intravitreal injection of Lucentis was performed on 51 infants of 27 to 33 weeks' gestational age from July 2020 to January 2021 at BSCCH named after Z.A. Bashlyaeva. All patients were diagnosed with one of the next conditions:

retinopathy of prematurity stages 1+, 2+, 3 or 3+ zone I, stage 3+ zone II, and aggressive posterior retinopathy of prematurity. The surgery was performed under general anesthesia; the dose, technique and frequency of the Lucentis' injections were established according to the medical instruction of the medicine. Retinal laser photocoagulation was supplemented to the cases with poor outcomes after intravitreal injections; it was performed with adoption of lasers Supra (Quantel Medical, France) and Lachta-Mylon (Russia, Lasermedservis).

Results: Retinopathy of prematurity is a clinically approved indication for the administration of «Lucentis». The efficacy of this medicine was estimated at 86,27% in the following groups: aggressive posterior retinopathy of prematurity, stage III zone 2, and zone 1 retinopathy of prematurity. The data suggests regression of retinopathy of prematurity after the second injection of Lucentis. Progress of the disease following a second application of the drug necessitates modification of the treatment mode and appeals to restrain from an excessive Lucentis' use. Complete vascularization stood at 51% of the ROP cases.

Conclusion: a thorough screening amongst the patients with retinopathy of prematurity who meet specific criteria for the treatment would allow to reach a greater outcome and avoid complications.

Key words: retinopathy of prematurity, vascular endothelial growth factor inhibitors, Lucentis, retinal photocoagulation

Введение

Основными принципами лечения ретинопатии недоношенных (РН) являются устранение патологической вазопролиферации сетчатки и снижение активности эндотелиального фактора роста, создание условий для завершения васкуляризации [1-3]. Наиболее эффективными методами, отвечающими подобным требованиям, являются периферическая лазеркоагуляция сетчатки и введение ингибиторов ангиогенеза в стекловидное тело [4-8]. Оба способа ориентированы на одно и тоже патогенетическое звено, но за счет разных механизмов [2,9-11]. Несмотря на доказанную неоспоримую роль лазерной хирургии при РН, она обладает рядом установленных недостатков [12,13], что определяет необходимость поиска альтернативных и дополнительных способов лечения. Поэтому особый интерес при выборе таргетной терапии РН представляют блокаторы сосудистого эндотелиального фактора роста. Однако, их использование имеет ограничения [14-18], что осложняет широкое применение в клинической практике у недоношенного ребенка.

В июле 2020 года в России к препарату Ранибизумаб («Луцентис») были внесены показания для использования при РН [19]. В условиях поиска минимально инвазивных и щадящих методов лечения его применение выглядит перспективным способом, позволяющим сохранить анатоми-топографическую целостность и функции сетчатки.

Цель и задачи

Оценить возможности применения препарата «Луцентис» в монотерапии активной фазы ретинопатии недоношенных.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе ГБУ ДГКБ им.З.А.Башляевой с июля 2020 года по январь 2021 (7 месяцев).

По направлению из перинатальных центров г. Москвы, Московской области, регионов, многопрофильных стационаров, профильных кабинетов катамнеза, городских и частных поликлиник был госпитализирован 51 ребенок с гестационным возрастом 27-33 недели для проведения интравитреального введения Луцентис (Швейцария, Новартис Фарма).

Критериями для отбора пациентов являлись наличие РН 1+, 2+, 3 или 3+ стадии в зоне I, 3+ стадии в зоне II и задней агрессивной РН (ЗАФР) [19]. Распределение детей по группам представлено в таблице 1.

Распределение пациентов по группам для интравитреального введения препарата «Луцентис».

Классификация ретинопатии недоношенных	Задняя агрессивная форма	зона 1 II, III стадии	зона 2 III стадии
Количество детей	32	15	4

Операция интравитреального введения препарата «Луцентис» выполнялась в условиях глазной операционной. В качестве обезболивания использовался метод ингаляционной анестезии препаратом «Севофлуран» с установкой ларингеальной маски. После двукратной обработки операционного поля 0,05% антисептическим спиртовым раствором и инстилляцией Тобрамицина 0,3% (Индия, Сентисс Фарма) в конъюнктивальную полость, операционное поле покрывалось офтальмологической салфеткой, устанавливался векорасширитель. Инъекция проводилась шприцом объемом 1 мл с иглой 30G x 0,5" в нижне-наружном квадранте в 1-2 мм от лимба с формированием тоннельной склеростомы в дозе 0,2 мг (0,02 мл раствора). После окончания оперативного вмешательства проводилась повторная инстилляцией тобрамицина 0,3% в конъюнктивальную полость; выход из седации и восстановление сознания происходили в течении 7-10 минут. При отсутствии серьезной сопутствующей патологии пациенты переводились под наблюдение неонатолога отделения новорожденных в отделение офтальмологии в палаты совместного пребывания для грудных детей. Послеоперационное обезболивание заключалось в закапывании 0,4% раствора инокана в конъюнктивальный мешок. Промежуток между введениями двух доз препарата «Луцентис» в один глаз составлял 1,5-2 месяца в зависимости от тяжести течения РН. При отсутствии эффекта после повторной манипуляции проводилась операция профилактической лазеркоагуляции сетчатки (ПЛК). Частота послеоперационных осмотров определялась состоянием сетчатки.

Использовались лазерные установки с адаптером на бинокулярном налбном офтальмоскопе - Supra (Quantel Medical, Франция) и ЛАХТА-МИЛОН (Россия, ЛАЗЕРМЕДСЕРВИС) с длиной волны лазерного излучения 810 и 532 нм, соответственно.

Результаты и обсуждение

Полный регресс после однократного применения отмечен у 72,5% детей (22 ребенка с ЗАФР, 11 пациентов с РН зоны 1, 4 ребенка с РН III стадии зоны 2). Анализ результатов проведенного лечения показал, что монотерапия препаратом «Луцентис» эффективна в 86,27% случаев. Для завершения активной фазы патологического процесса 4 пациентам с РН зоны 1 (7,84%) потребовалось повторное введение.

В группе ЗАФР двукратные инъекции выполнены 10 детям, из них всего у 3,92% (2 ребенка) отмечена стабилизация РН. А в 13,72% случаев (7 детей) произошла реактивация процесса, что потребовало проведение ПЛК. Интересно отметить, что у пациентов данной категории возраст трех детей был более 1 года.

Особого внимания заслуживают пациенты, состояние глазного дна которых соответствовало показаниям для многократных введений препарата «Луцентис» в стекловидное тело. Так, повторные инъекции оказались неэффективными у двоих пациентов с ЗАФР, было отмечено монокулярное прогрессирование в 4 стадию РН. В то время как на контрлатеральных глазах, где методом выбора была ПЛК, в результате проводимого лечения наблюдался регресс. Тактика ведения была обоснована официальными рекомендациями использования препарата «Луцентис» при РН и настойчивым желанием родителей. Полагаем, что сохранение активности патологического процесса после однократного интравитреального введения «Луцентис» у пациентов с высоким риском прогрессирования, несмотря на соответствие картины глазного дна показаниям к применению препарата, определяет необходимость проведения ПЛК.

Отмеченная нами высокая результативность после первичного введения и значительно меньший терапевтический ответ последующих инъекций позволяет задуматься о необходимом достаточном количестве и кратности ИВВ до момента принятия решения об изменении тактики ведения пациента.

По данным литературы одним из осложнений использования ранибизумаба является более частая реактивация РН [6,20-22]. Однако за период наблюдения в течение 7 месяцев подобной закономерности нами выявлено не было, а полная васкуляризация достигнута у 51% общего числа пациентов с РН после ИВВ. Данный факт послужил основанием для завершения скрининговых осмотров у 11 детей с ЗАФР, 11 детей из группы РН первой зоны, 4 детей 3 стадии второй зоны [23]. Побочных реакций, обусловленных действием препарата, и осложнений в связи методикой проведения операции получено не было.

Выводы

1. Однократное ИВВ препарата «Луцентис» обеспечивает максимальный клинический результат у детей с ЗАФР, РН I зоны, РН III стадии зоны 2.
2. Сохранение активности РН после двух введений препарата «Луцентис» является критерием выбора для смены терапии.
3. Использование препарата «Луцентис» в монотерапии активной РН у детей старше 1 года целесообразно.
4. Интравитреальное введение препарата «Луцентис» позволяет добиться полной васкуляризации сетчатки в 51% случаев у детей с ЗАФР, РН I зоны, РН III стадии зоны 2

Заключение

Высокая эффективность применения препарата «Луцентис» при РН обусловлена использованием его у пациентов с определенной выраженностью активности и локализацией патологического процесса, оценкой общего статуса пациента, а также своевременном введении препарата. Несмотря на очевидные преимущества, монотерапия ранибизумабом не является универсальным методом лечения РН и нередко требует дополнительных вмешательств и индивидуального подхода [12,24]. Таким образом, применение ингибиторов ангиогенеза в лечении РН требует изучения на большем количестве пациентов, оценки отдаленных результатов состояния сетчатки, соматического и офтальмологического статуса в целом.

Список литературы:

1. Darlow B.A., Gilbert C. Retinopathy of prematurity - A world update. *Semin. Perinatol.* 2019; 43(6): 315-316. Doi: 10.1053/j.semperi.2019.05.001
2. Smith L.E., Hard A.L., Hellström A. The Biology of Retinopathy of Prematurity: How Knowledge of Pathogenesis Guides Treatment *Clin Perinatol.* 2013; 40(2): 201-214. Doi: 10.1016/j.clp.2013.02.002
3. Kim S.J., Port A.D., Swan R., Campbell J.P., Chan R.V.P. et al. Retinopathy of Prematurity: A Review of Risk Factors and their Clinical Significance. *Surv. Ophthalmol.* 2018; 63(5): 618-637. Doi: 10.1016/j.survophthal.2018.04.002
4. Sankar M.J., Sankar J., Chandra P. Anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) drugs for treatment of retinopathy of prematurity. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; 1(1). Doi: 10.1002/14651858.CD009734.pub3. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29308602/>
5. Lepore D., Quinn G.E., Molle F., Orazi L., Baldascino A., et al. Follow-up to age 4 years of treatment of type 1 retinopathy of prematurity intravitreal bevacizumab injection versus laser: fluorescein angiographic findings. *Ophthalmology.* 2018; 125(4): 218-226. Doi: 10.1016/j.ophtha.2017.08.005
6. Wong R.K., Hubschman S., Tsui I. Reactivation of retinopathy of prematurity after ranibizumab treatment. *Retina.* 2015; 35(4): 675-680. Doi: 10.1097/IAE.0000000000000578
7. Hartnett M.E. VEGF antagonist therapy for ROP. *Clin Perinatol.* 2014; 41(4): 925-943. Doi: 10.1016/j.clp.2014.08.011
8. Асташева И.Б., Шевверная О.А. Анализ эффективности применения различных видов офтальмокоагуляторов в лечении ретинопатии недоношенных. *Российская детская офтальмология.* 2014; 1: С. 25-29.

9. Rybus-Kalinowska B., Kwiatkowski S., Chojnacka K., Jochem J. Retinopathy of prematurity–etiopathogenesis and treatment. *Pediatr Med Rodz.* 2017; 13(1): 22-28. Doi:10.15557/PiMR.2017.0002
10. Young T.L., Anthony D.C., Pierce E., Foley E., Smith L.E. Histopathology and vascular endothelial growth factor in untreated and diode laser-treated retinopathy of prematurity. *J AAPOS.* 1997; 1(2): 105-10. Doi: 10.1016/s1091-8531(97)90008-2
11. Stefansson E. The therapeutic effects of retinal laser treatment and vitrectomy. A theory based on oxygen and vascular physiology. *Acta Ophthalmol Scand.* 2001; 79 (5): 435-40. Doi: 10.1034/j.1600-0420.2001.790502.x.
12. Wang S., Zhang G., Shenzhen S. Screening for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group Laser therapy versus intravitreal injection of anti-VEGF agents in monotherapy of ROP: a Meta-analysis. *Int J Ophthalmol.* 2020; 13 (5): 806-815. Doi: 10.18240/ij.2020.05.17
13. Carroll L., Owen L.A. Current evidence and outcomes for retinopathy of prematurity prevention: insight into novel maternal and placental contributions *Explor Med.* 2020;1:4-26. Doi: 10.37349/emed.2020.00002
14. Hard A., Hellström A. On the use of antiangiogenic medications for retinopathy of prematurity. *Acta Paediatr.* 2011; 100 (8): 1063-5. Doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02330.x
15. Sato T., Wada K., Arahori H., Kuno N., Imoto K. et al. Serum concentrations of bevacizumab (avastin) and vascular endothelial growth factor in infants with retinopathy of prematurity. *Am. J. Ophthalmol.* 2012; 153 (2): 327-33. Doi: 10.1016/j.ajo.2011.07.005
16. Hoerster R., Muether P., Dahlke C., Mehler K. et al. Serum concentration of vascular endothelial growth factor in an infant treated with ranibizumab for retinopathy of prematurity. *Acta Ophthalmol.* 2013; 91 (1): 74-5. Doi: 10.1111/j.1755-3768.2012.02469.x
17. Садовникова Н.Н., Присич Н.В., Бржеский В.В. Анти-VEGF терапия ретинопатии недоношенных. *Российская педиатрическая офтальмология.* 2016; 11(4): 212-220. Doi: 10.18821/1993-1859-2016-11-4-212-220
18. Сидоренко Е.Е., Назаренко А.О., Сидоренко Е.И., Обрубов С.А. Эффективность anti-VEGF-препарата «Ранибизумаб» при лечении ретинопатии недоношенных. *Российская детская офтальмология.* 2019; (3). Doi:10.25276/2307-6658-2019-3-17-21. Available at: <https://eyepress.ru/article.aspx?41176>.
19. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Луцентис. Регистрационный номер ЛСР-004567/08. 15.06.2020. Available at: https://www.novartis.ru/sites/www.novartis.ru/files/product-info/2020-06-15_Lucentis_NPI_v0.1-full_version.pdf
20. Tran K., Cernichiaro-Espinosa L.A., Berrocal A. Management of Retinopathy of Prematurity - Use of Anti-VEGF Therapy. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology.* 2018; 7(1): 56-62. Doi: 10.22608/APO.2017436
21. Menke M.N., Framme C., Nelle M., et al. Intravitreal ranibizumab monotherapy to treat retinopathy of prematurity zone II, stage 3 with plus disease. *BMC Ophthalmol.* 2015; 15(20). Doi: 10.1186/s12886-015-0001-7. Available at: <https://bmcophthalmol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12886-015-0001-7>
22. Alyamac S.E., Gomez A., Kocluk Y., et al. The process of retinal vascularization after anti-VEGF treatment in retinopathy of prematurity: a comparison study between ranibizumab and bevacizumab. *Ophthalmologica.* 2016; 236:139-147. Doi: 10.1159/000449530.
23. Нероев В.В., Катаргина Л.А. Ретинопатия недоношенных, активная фаза. *Клинические рекомендации.* 2017.
24. Beck K.D., Rahman E.Z., Ells A., Mireskandari K., Berrocal A. et al. SAFER-ROP: Updated Protocol for Anti-VEGF Injections for Retinopathy of Prematurity. *Home Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina.* 51(7). Doi: 10.3928/23258160-20200702-05. Available at: <https://journals.healio.com/doi/10.3928/23258160-20200702-05>.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ПВХРД. ПОКАЗАНИЯ К ЛАЗЕРКОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ

Шелковникова^{1,2} Т.В., Сибирская³ Е.В., Вавин⁵ Г.В., Поленикова⁴ Е.С.,
Белозерова⁵ Д.Ю., Шишлянникова¹ Н.Ю.

¹НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

²ООО Медицинская клиника «Новелла», г. Кемерово, Россия

³ФГБОУ Московский Государственный медико-стоматологический университет им.Е. И. Евдокимова, Россия

⁴ООО Лазер-оптик, г. Кемерово, Россия

⁵Кемеровская областная клиническая больница имени С.В. Беляева, г. Кемерово, Россия

Резюме.

Цель. Изучить нарушения в системе гемостаза, уровень волчаночного антикоагулянта (ВА) у беременных женщин с ПВХРД, определить сроки проведения профилактической лазеркоагуляции сетчатки.

Материалы и методы: проведены офтальмологические обследования у 60 беременных женщин (120 глаз) со сроком беременности от 8 ÷38 недель, в возрасте - 22÷37 лет. Отягощенный акушерский анамнез 30 чел. Исследования некоторых параметров системы гемостаза проводились скрининговыми и специальными методами автоматизированной коагулометрии. Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами.

Результаты исследования и обсуждения. У 29 пациенток, с наличием периферических витреохориоретинальных дистрофий (ПВХРД) обнаружены отклонения от нормы параметров гемостаза, гиперкоагуляция, тромбинемия, эндотелиальная дисфункция. ВА встречается в 48% у беременных женщин с ПВХРД ПВХРД с опасными формами и ВА встречается в 37%.

Заключение. ВА значительно снижает тромбозостойкость эндотелия микроциркуляторного русла сетчатки и усиливает гиперкоагуляцию, нарушает естественную регуляцию системы гемостаза и усугубляет ишемию сетчатки, участвует в патогенезе острой сосудистой патологии сетчатки у беременных с ОПГ-гестозом. ВА поддерживает аутоиммунное воспаление в сосудистой системе и сетчатке и участвует в патогенезе ПВРД у беременных. Показано обследование периферического глазного дна у беременных с опасными формами ПВРД и неопасными формами ПВРД с линзой Гольдмана в 1, 2, 3, триместрах. Профилактическая лазерная фотокоагуляция сетчатки у беременных с опасными формами ПВХРД проводится в сроки от 16 до 32 недель, исключая 14, 28 недели.

Ключевые слова: периферические витреохориоретинальные дистрофии (ПВХРД), система гемостаза, беременные, ВА, тромбофилия, эндотелиальная дисфункция.

CLINICAL AND LABORATORY CHANGES IN THE HEMOSTASIS SYSTEM IN PREGNANT WOMEN WITH PVHD. INDICATIONS FOR RETINAL LASER PHOTOCOAGULATION

SHELKOVNIKOVA^{1,2} T.V., SIBIRSKAYA³ E.V., VAVIN⁵ G.V., POLENNIKOVA⁴ E.S., BELOZEROVA⁵ D.Y.,
SHISHLJANNIKOVA¹ N.Y.

¹International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

²LLC Medical Clinic "Novella", Kemerovo, Russia

³Moscow State University of Medicine and Dentistry named after E.I.Evdokimov, Moscow, Russia

⁴LLC Medical Clinic Laser Optician, Kemerovo, Russia

⁵Kemerovo Regional Clinical Hospital named after S.V. Belyaeva, Kemerovo, Russia

Summary.

Objective. To study abnormalities in the hemostasis system and the level of lupus anticoagulant (LA) in pregnant women with PVRD and to determine the timing of prophylactic retinal laser photocoagulation.

Materials and Methods: Ophthalmologic examination was conducted in 60 pregnant women (120 eyes) with a gestational age of 8 to 38 weeks and aged 22 to 37 years. There was a history of obstetric complications in 30 women. Some parameters of the hemostasis system were investigated by screening and special methods of automated coagulometry. Lupus anticoagulant (LA) detection was performed using poison tests, as well as confirmatory tests with donor plasma and corrective phospholipids.

Results of the study and discussion. In 29 patients with peripheral vitreochorioretinal dystrophies (PVRD), abnormal hemostasis parameters, hypercoagulability, thrombinemia, and endothelial dysfunction were found. LA occurs in 48% of pregnant women with PVRD with dangerous forms of PVRD and LA occurs in 37%. Conclusion. LA significantly reduces endothelial thromboresistance of the retinal microcirculatory bed and enhances hypercoagulation, breaks the natural regulation of the hemostasis system and aggravates retinal ischemia, and is involved in the pathogenesis of acute retinal vascular pathology in pregnant women with OPG-gestosis. LA supports autoimmune inflammation in the vasculature and retina and is involved in the pathogenesis of PVRD in pregnant women. Peripheral ocular fundus examinations of pregnant women with dangerous forms of PVRD and non-dangerous forms of PVRD with Goldman lens in 1, 2, 3, trimesters are indicated. Prophylactic laser photocoagulation of the retina in pregnant women with dangerous forms of PVRD is performed at terms from 16 to 32 weeks, excluding 14, 28.

Keywords: peripheral vitreochorioretinal dystrophies (PVRD), hemostasis system, pregnant women, LA, thrombophilia, endothelial dysfunction.

Физиологически протекающая беременность представляет собой процесс, сопровождающийся формированием особых механизмов регуляции жизнедеятельности и меняющегося во времени баланса гемостатических реакций в организме женщины. Она ассоциируется с прогрессирующей во времени тромбогенностью, формируемой организмом матери для снижения кровопотери в родах. В связи с этим вынашивание беременности и послеродовой период определены в качестве доказанных факторов риска развития венозных тромбозов и тромбозов легочной артерии с частотой в 4÷50 раз выше по сравнению с небеременными женщинами. Многие виды патологии беременности (выкидыши, синдром задержки внутриутробного развития плода, преждевременные роды и др.) связываются с нарушениями в системе гемостаза. Активация свертывания крови может быть критична для развития плода в связи с нарушениями микроциркуляции, маточного и фетоплацентарного кровотока. Имеются публикации, касающиеся нормативных значений тех или иных показателей системы гемостаза при физиологической беременности[1]. У пациенток с отягощённым акушерским анамнезом и ОПП-гестозом необходимо исследовать в динамике: количество тромбоцитов, фактор Виллебранда (ФВ), содержание растворимых фибринмономерных комплексов (РФМК), фибриногена по Клаусу, антитромбина III, АПС, VIIIФ; определять наличие волчаночного антикоагулянта (ВА). ОПП-гестоз в настоящее время выявляется в популяции в 16,6-23% случаев без тенденции к снижению, общий статус характеризуется наличием системных сосудистых нарушений в виде артериальной гипертензии, протеинурии, отёков, метаболических расстройств[2]. Невынашивание беременности, кровотечение в родах, ОПП-гестоз являются клиническими признаками антифосфолипидного синдрома (АФС), и классифицируется как приобретенная тромбофилия. Тромбофилия - это склонность организма к тромбообразованию, которая связана с нарушением баланса между свертывающей и противосвертывающей системами гемостаза, предрасположенности к раннему развитию и рецидивированию сосудистых венозных и артериальных тромбозов с различной локализацией и облитерацией сосудов. Тромбофилия может быть, как генетической, так и приобретенной. АФА— гетерогенная группа иммуноглобулинов класса G и M; волчаночный антикоагулянт – одно из трех основных антифосфолипидных антител (АФА), наличие которых связывают с повышенным риском возникновения тромбозов. Эти нарушения характеризуются *in vitro* развитием гипокоагуляции в фосфо-липидзависимых тестах, которые выявляется комплексом специальных лабораторных методик и обозначается как эффекты АФА, обладающие свойствами волчаночных антикоагулянтов[3,4,5].

Периферическая хориоретинальная дистрофия (ПВХРД) может возникнуть у беременных при патологических процессах в сердце, сосудах. На фоне беременности с гестозом, системной сосудистой патологией ПВХРД могут прогрессировать из-за ретиальной гипоксии, в значительной степени ответственной за формирование ПВХРД. Исследованию системы гемостаза придается большое значение при ведении беременности и предупреждении ее осложнений, однако границы нормы и патологии на различных сроках гестации остаются недоступными для реальной лабораторной практики. Активация свертывания крови может быть критична для развития плода в связи с нарушениями микроциркуляции, маточного и фетоплацентарного кровотока [5,6]. Имеются публикации, касающиеся нормативных значений тех или иных показателей системы гемостаза при физиологической беременности [6]. Недостаточно исследований, посвященных комплексной оценке сосудистотромбоцитарного гемостаза у беременных женщин на фоне как опасных, так и неопасных форм ПВХРД с гестозом. ОПГ-гестоз могут провоцировать антифосфолипидные антитела (АФА) [7]. Изучение коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного звеньев системы гемостаза в присутствии ВА у беременных женщин с опасными формами ПВХРД является актуальным для назначения своевременной антикоагулянтной и дезагрегантной терапии на фоне гестоза и акушерской патологии с целью выбора способа родоразрешения и сохранения как жизни, так и зрения матери и ребенка [8,9,10].

Цель. Изучить изменения в системе гемостаза, уровень волчаночного антикоагулянта у беременных женщин с ПВХРД. Определить показания к лазерной коагуляции сетчатки с учетом изменений на периферии сетчатки, состоянием системы гемостаза и ОПГ.

Материалы и методы: 60 беременных женщин (120 глаз) со сроком беременности от 8+38 недель, в возрасте - 22+37 лет. Срок наблюдения 12-40 недель. Отягощенный акушерский анамнез: ОПГ- гестоз - 25 чел.; угроза прерывания беременности -3чел.; ранее невынашивание беременности - 14 чел. Кровотечение в родах - 6 чел., у 3 пациенток в послеродовом периоде наблюдался тромбоз глубоких вен нижних конечностей, сепсис.

Исследования системы гемостаза проводились скрининговыми и специальными методами автоматизированной коагулометрии: определение активности фактора Виллебранда (ФВ), антитромбина III, АПС, VIIIF; количественное определение растворимых фибриномономерных комплексов (РФМК); количественное содержание фибриногена по Клаусу. Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами.

Офтальмологические исследования. Стандартные и специальные методы исследования: осмотр глазного дна с линзой Гольдмана, ФАГ глазного дна, ОСТ, УЗИ А-В сканирование.

Результаты исследования и обсуждения. На момент обращения к офтальмологам лазерного отделения миопическая рефракция выявлена на 104 глазах (87%), из них слабая степень в 20 глаз (17 %), средняя степень 46 глаза (38%), высокая степень в 38 глаз (32%). Эмметропия выявлена на 16 глазах (13%). До беременности пациентки наблюдались с ПВХРД: инеивидная дегенерация отмечена на 14 глазах (12%); хориоретинальная атрофия на 6 глазах (5%); патологическая гиперпигментация на 11 глазах (9%); комбинированная ПВХРД без дефектов сетчатки -26 глаза (22%); неосложненный ретиношизис - 5 глаз (4%). Опасные формы ПВХРД: решетчатая дегенерация - 17 глаз (14%); дистрофия «след улитки» -7 глаз (6%); комбинированные виды ПВХРД с дефектами сетчатки - 34 глаза (28%).

ПВХРД у 33 (55%) беременных женщин прогрессировали. Решетчатая дегенерация - 17 глаз (14%) с витреоретинальной тракцией; дистрофия «след улитки» - 7 глаз (6%) с витреоретинальными хвостами; комбинированные виды ПВХРД с дефектами сетчатки - 26 глаз (22%) с витреоретинальной тракцией. УЗИ А-В сканирование: в 41,7% случаев выявили деструкцию стекловидного тела Пст., витреоретинальную тракцию. Неопасная ПВХРД диагностирована у 28 беременных (46%): среди них сосудистая патология сетчатки и острая сосудистая патология сосудов сетчатки встречалась у беременных с ОПГ-гестозом у 4 чел. (14%): ЦСХ - 2 чел. (6%); тромбоз нижне-височной ветви центральной вены сетчатки и частичная непроходимость нижне-височной ветви центральной артерии сетчатки (ЦАС) - 1 чел. (2%); непроходимость ЦАС-1чел. (2%), претромбоз верхне-височной и нижне-височной ветви центральной вены сетчатки - 1 чел.(2%); острая ишемия цилиарного кровообращения (триангулярный синдром Амальрика) - 1 чел. У этой женщины 26 лет, наблюдали

кровоотечение в родах и зоны Амальрика – зоны ишемии на периферии глазного дна (наличие ВА в сочетании с очень низким протеином С).

У 31беременной (52%) с опасными и с неопасными формами ПВХРД и на фоне ОПГ у 8 человек(14%) выявлены изменения в системе гемостаза в сторону повышения уровней прокоагулянтов и антикоагулянтов: фактор Виллебранда - $149\pm 4,5\%$; VIIIф $160\pm 1,1\%$; антитромбин III - $130\pm 4,8\%$; АПС - $110\pm 4,2\%$; фибриноген - $5.5\pm 0,23\%$; РФМК - $11\pm 0,50$ мг%. У 29 пациенток (48%) с опасными и неопасными формами ПВХРД выявлено наличие ВА $-1,3\pm 1,4$. Циркуляция ВА в крови стимулирует свёртывающую систему крови и способствует тромбообразованию как в венозных, так и в артериальных сосудах и в первую очередь в сосудах мелкого калибра, что отягощает течение беременности, роды и послеродовый период, пагубно сказывается на развитии плода и способствует появлению ПВХРД и её прогрессированию. Результаты офтальмологических исследований в изучаемой группе женщин и исследование у них системы гемостаза наглядно демонстрируют роль ВА в появлении тромбозов и претромбозов сосудов сетчатки. Наличие ВА в крови изученных групп беременных является признаком приобретенной тромбофилии и вызывает необходимость более глубокого изучения системы гемостаза при наличии отягощённого акушерского анамнеза и офтальмологического мониторинга беременных с целью диагностики ПВХРД и тромбоза сосудов сетчатки, а также для подбора соответствующей дезагрегантной и антикоагулянтной терапии.

Выводы: 1. У беременных женщин с ПВХР имеется многофакторная тромбофилия с гиперкоагуляционным синдромом и эндотелиальной дисфункцией.

2. ВА участвует в патогенезе и прогрессировании не только ПВХРД, но и острой сосудистой патологии сетчатки у этих женщин.

3. Необходим офтальмологический мониторинг у беременных женщин и проведение исследование системы гемостаза и исследование на наличие ВА, для своевременной профилактики антикоагулянтами и дезагрегантами, с целью сохранения жизни и высоких зрительных функций как матери, так и ребенка.

4. Показаны осмотры периферии глазного дна беременных женщин с опасными формами ПВХРД и неопасными формами ПВХРД с линзой Гольдмана в 1, 2, 3, триместры.

5. Профилактическая лазеркоагуляция сетчатки у беременных женщин с опасными формами ПВХРД проводится в сроки от 16 недель до 32 недель, исключая 14, 28 недели (критически опасные сроки закладки жизненно важных органов плода) с учетом акушерско-гинекологической патологии и изменениями в системе гемостаза.

Список литературы

1. Арабаджян С.И., Анджелова Д.В. и др. Роль офтальмологического обследования при беременности//Уральский медицинский журнал. 2018; 1 (156): 108-111.
2. Коленко О.В., Сорокин Е.Л. Родоразрешение при миопии у беременных женщин, выбор тактики // Офтальмохирургия. 2016;3: 64-68.
3. Краснощекова Е.Е., Бойко Э.В., Шадричев Ф.Е. Эволюция взглядов на выбор метода родоразрешения в зависимости от состояния глазного дна у беременных с периферической витреохориоретинальной дистрофией и ретмагенной отслойкой сетчатки//Офтальмологические ведомости. 2011; 2; IV: 62-70.
4. Манухин И.Б., Саксонова Е.О., Назарова Е.С. Акушерская тактика у беременных с периферическими витреохориоретинальными дистрофиями и отслойкой сетчатки миопического генеза //Вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии. 2016; 1 (5): 101 - 103.
5. Бышевский, А. Ш. Гемостаз при физиологической беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклампсией //Тромбоз, гемостаз и реология. 2010;4(44):13– 30.

6. Момот А. П., Тараненко И. А., Трухина Д. А., Романов В. В. Особенности сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на разных сроках физиологической беременности // Медицинский алфавит. 2014; 2. Современная лаборатория. 1: 27-31.
7. Момот А.П., Сердюк Г.В., Григорьева Е.Е., Николаева М.Г. Генетически обусловленные тромбофилии и невынашивание беременности //Тромбоз, гемостаз и реология. 2012; 1 (49).
8. Шелковникова Т.В., Сибирская Е.В., Кацадзе Ю.Л., Шишлянникова Н.Ю. Офтальмологический мониторинг тромбофилии у беременных женщин //Российский кардиологический журнал. 2019. Т. 24. № 3 S1. С. 19а-19б.
9. Шелковникова Т.В., Поленикова Е.С., Сибирская Е.В., Мовсеян М.Х., Мовсеян Э.Х., Шишлянникова Н.Ю. Профилактика отслойки сетчатки у беременных женщин с тромбофилией //Современные технологии в офтальмологии. 2019. № 1. С. 393-396.
10. Шелковникова Т.В., Поленикова Е.С., Сибирская Е.В., Кацадзе Ю.Л., Федосеева О.С., Белозерова Д.Ю.. Изменения в системе гемостаза у беременных женщин с ПВХРД // Пролiferативный синдром в биологии и медицине. Материалы I Российского форума с международным участием . 26-27 ноября 2020 г., Москва, on-line.

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ СЕРОЗНОЙ ХОРИОРЕТИНОПАТИИ

Шелковникова Т.В.², Баркова Н.Ю.⁴, Лысухина И.Н.⁵, Балашова Л.М.^{1,3}, Салмаси Ж.М.³

¹НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

²ООО «Медицинская клиника «Новелла», г. Кемерово, Россия

³ФГАОУ ВО Российский Национальный Исследовательский Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

⁴Кемеровская областная клиническая больница имени С.В. Беляева, г. Кемерово, Россия

⁵ООО Центр реабилитации и восстановления, г.Прокопьевск, Россия

Цель. Изучить эффективность применения даларгина в комплексной диагностике, сочетании с консервативной и лазерной терапией ЦСХРП.

Материал и методы. Исследования проведены на двух группах пациентов с различной давностью ЦСХРП.

Результаты исследования. Локализацию точки просачивания относительно зоны отслойки НЭС определяли на снимке в ретро-режиме после наложения на снимок ФАГ. Путем наложения изображения ФАГ с точкой просачивания и анфас изображения ОСТ, визуализирующего отслойки ПЭС, определяли совпадение точки просачивания с ОПЭ. Через 2 часа после подконъюнктивных инъекций даларгина у всех пациентов I группы с ЦХРП в 1,5-2 раза улучшались зрительные функции, на 50 ± 19 мкм уменьшалась высота ОПЭС, на ± 20 мкм – ОНЭС, на 100-150 мкм уменьшалась ее протяженность. II группа ЦСХР в момент обращения, ЛКС проведена в сроки 1-2 недели после обращения, с учетом высоты отслойки нейрозпителя (ОНЭ) и протяженности отслойки (700-800мкм), наличии альтерации РПЭ по данным ОКТ. После комплексного лечения у пациентов во II группе через 6-8 недель отмечалось разрешение отслойки ОПЭС и ОНЭ. В этой группе не было отмечено рецидивов в сроки наблюдения до 8 лет, образования хориоидальной неоваскулярной мембраны. У всех пациентов после комплексного лечения отмечены достаточно высокие зрительные функции. Выводы. Применение даларгина в диагностике у пациентов с центральной серозной хориоретинопатией целесообразно, так как позволяет в динамике анализировать высоту и диаметр ОПЭС и толщину хориоидеи, воздействовать на лимфатический коллектор вокруг диска и макулы, связывая их с супрахориоидальным пространством, способствуя оттоку субретинальной жидкости.

Ключевые слова: даларгин, лимфатический дренаж, центральная серозная хориоретинопатия.

INNOVATIONS IN COMPREHENSIVE DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF CENTRAL SEROUS CHORIORETINOPATHY

T.V. Shelkovnikova², N. Yu. Barkova⁴, Lysukhina I. N.⁵, Balashova L.M.^{1,3}, Salmasi G.M.³

¹International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

²LLC Medical Clinic "Novella", Kemerovo, Russia

³FSBEI HE Russian National Research University named after N.I. Pirogov, Ministry of Health of Russia, Moscow

⁴Kemerovo Regional Clinical Hospital named after S.V. Belyaeva, Kemerovo, Russia

⁵LLC Center for Rehabilitation and Recovery, Prokopyevsk, Russia

Summary.

To study the effectiveness of the use of dalargin in complex diagnostics, in combination with conservative and laser therapy of CSHRP.

Patients and methods. Investigations were carried out on two groups of patients with different prescription CSHRP.

Research results. The localization of the infiltration point relative to the NES detachment zone was determined on the image in the retro-mode after the FAG was superimposed on the image. By superimposing the PAH image with the leakage point and the frontal

view of the OCT image visualizing the detachment of the RPE, the coincidence of the leakage point with the PET was determined. 2 hours after subconjunctival injections of dalargin, all patients of group I with CCRP improved visual functions by 1.5-2 times, the OPES height decreased by $50 \pm 19 \mu\text{m}$, ONES decreased by $\pm 20 \mu\text{m}$, and its length decreased by 100-150 μm . Group II CSHR at the time of treatment, LKS was performed within 1-2 weeks after treatment, taking into account the height of neuroepithelial detachment (NE) and the length of the detachment (700-800 μm), the presence of RPE alteration according to OCT data. After complex treatment, patients in group II after 6-8 weeks showed resolution of OPES and ONE detachment. In this group, there were no relapses during follow-up up to 8 years, the formation of a choroidal neovascular membrane. All patients after complex treatment showed rather high visual functions.

Conclusions. The use of dalargin in diagnostics in patients with central serous chorioretinopathy is advisable, since it allows dynamics to analyze the height and diameter of the OPES and the thickness of the choroid, to act on the lymphatic collector around the disc and macula, connecting them with the suprachoroidal space, facilitating the outflow of subretinal fluid.

Key words: dalargin, lymphatic drainage, central serous chorioretinopathy.

Центральная серозная хориоретинопатия (ЦСХРП) – заболевание лиц трудоспособного возраста, характеризующееся центральной отслойкой сетчатки, связанной с усилением перфузии и увеличением толщины сосудистой оболочки с дисфункцией пигментного эпителия сетчатки [1]. Длительное время флюоресцентная ангиография (ФАГ) была ключевым методом в постановке диагноза ЦСХРП. Однако совокупность признаков, выявляемых с помощью оптической когерентной томографии (ОСТ), позволяет поставить диагноз ЦСХРП без проведения ФАГ в 75,8% случаев. Основной необходимостью ФАГ при ЦСХРП остается идентификация точки просачивания (“фильтрации”) для последующей ее фокальной лазерной коагуляции (ФЛК). Неинвазивная ОСТ идентификация точки просачивания выглядит более привлекательной, так как позволяет полностью избавить часть пациентов с аллергологическим анамнезом от проведения ФАГ. Точка “просачивания - фильтрации” ассоциирована с локальной отслойкой пигментного эпителия сетчатки (ОПЭС), расположена в верхней половине зоны отслойки сетчатки и обусловлена истончением слоя концевых сегментов фоторецепторов, что, по нашему мнению, является проявлением ишемии вследствие нарушения микроциркуляции и угрозой апоптоза ПЭ. В научно-клинических работах многие авторы показали, что изменения перфузии и морфологии сосудистой оболочки играют ключевую роль в патогенезе ЦСХРП. Достоверным признаком по ОСТ отслойка ПЭС по протяженности $d=300\mu\text{m}$ чаще всего локализуется в верхней половине ОНПЭ, и соответствует зоне истончения слоя концевых сегментов фоторецепторов (ФР) отслоенного нейроэпителия [2]. В патогенезе ЦСХРП большое значение придается нарушению очаговой хориоидальной сосудистой циркуляции и, которая приводит к вторичной дисфункции прилежащего ретинального пигментного эпителия сетчатки (РПЭ). Причиной нарушения очаговой хориоидальной сосудистой микроциркуляции может быть хроническое или острое воспаление сосудистой стенки хориокапилляров [1,2]. Точка “фильтрации”, точнее очаговая ишемия, может совпадать с заблокированными лимфатическими каналами вокруг диска зрительного нерва (ДЗН) и макулы. Проведенные учеными в XX-XXI веках исследования доказали и подтвердили наличие лимфатических эндотелиоцитов в лимфатических каналах конъюнктивы, в супрахориоидальном пространстве, вокруг макулы и ДЗН, и в решетчатой пластинке. [3, 5]. Нейрогормоны могут присутствовать в амокриновых волокнах головного мозга и сетчатки, это энкефалин и гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). В некоторых клетках мозга, сетчатки находится только энкефалин, в других – содружество двух нейромедиаторных веществ, что необходимо для проведения нервного импульса внутри сетчатки и за ее пределы в головной мозг, особенно в стрессовых ситуациях, когда резко возрастает потребность в них. [4]. Наши многочисленные клинические исследования показали, что результаты лечения пациентов с ЦСХРП и МО с применением даларгина доказывают, что нейропептиды обладают способностью нормализовать региональную микроциркуляцию, лимфоотток, усиливать репарацию и регенерацию тканей, угнетать активность системы перекисного окисления липидов, а некоторые из них могут обладать и противовоспалительным действием. Поэтому использование в диагностике и лечении синтетического нейропептида даларгина при ЦСХРП, макулярного отека (МО) различного генеза оправдано. [6-11]. Изучение ретинопротекторных и нейропротекторных механизмов действия таких препаратов, определяющих структурную и функциональную специализацию клеток сетчатки, остается актуальной проблемой до настоящего времени.

Цель. Изучить эффективность применения даларгина в комплексной диагностике, сочетании с консервативной и лазерной терапией ЦСХРП.

Материалы и методы. Были сформированы 2 группы пациентов. I группа из 20 пациентов (20 глаз) в возрасте 28 ± 5 лет. Мужчин - 16, женщин – 4. Давность ЦСХР – 2-3 месяцев. Точка фильтрации или просачивания субретинальной жидкости в зоне ишемии хориоидеи определялась по ФАГ и ОСТ, располагалась субфовеально и юкстафовеально, поэтому субпороговая лазеркоагуляция сетчатки (ЛКС) не проводилась. II группа из 20 пациентов в возрасте 30 ± 5 лет, мужчин – 17, женщин – 3. Давность ЦСХРП – 2,5-4 месяца. Точка просачивания или фильтрации определялась методом ФАГ и ОСТ, располагалась экстрафовеально и около ДЗН по верхней височной его границе. Этой группе пациентов проводилась субпороговая ЛКС. Заболевание у пациентов обеих групп начиналось на фоне стресса, рецидива вирусной инфекции. Сосудистых системных и онкологических заболеваний не было. Проводилось комплексное лечение по схеме: даларгин 0,3-0,5 мл под конъюнктиву № 5 до субпороговой ЛКС и № 5-10 после ЛКС; неванак 0,1% в инстилляциях по 1 капле 3 р/сутки по той же схеме по срокам, до лазерного лечения, а после лазерного лечения длительность назначения неванака – до 1 месяца. Лазерное лечение – по методике субпороговой фокальной лазеркоагуляции в одной или двух-трех точках просачивания красителя экстрафовеально и в точке совпадения просачивания, определяемых методом ОСТ. Лазерное лечение – на установке «NIDEK» (Япония) Nd:YAG, $\lambda = 532$ нм с параметрами: мощность 60-110 мВт, экспозиция 0,1-0,15 сек, диаметр коагулятов 50 ± 100 мкм.

Пациентам с ЦСХР проводились стандартные офтальмологические (визометрия, тонометрия, периметрия, прямая офтальмоскопия) и специальные методы исследования: осмотр глазного дна с линзой Гольдмана, ФАГ глазного дна на Фундус-камере «Торкон» (Япония), оптическая когерентная томография сетчатки (ОСТ) на аппарате RTVue-100 фирмы Орточе (США); макулярная ЭРГ, компьютерная периметрия. Для статистической обработки данных использовали программный пакет Statistica 10.0.

Результаты и обсуждения. Оригинальным способом определяли точку просачивания – в зоне элевации ПЭС, учитывая ее протяженность и высоту. Достоверными ОСТ- признаками точки просачивания при неразрешившейся острой ЦСХРП является отслойка ПЭС, локализующаяся в верхней половине отслойки сетчатки, которой соответствует зона истончения фоторецепторов и ишемии в слое хориокапилляров. Локализацию точки просачивания относительно зоны отслойки НЭС определяли на снимке в ретро-режиме после наложения на снимок ФАГ. Путем наложения изображения ФАГ с точкой просачивания и анфас изображения ОСТ, визуализирующего отслойки ПЭС, определяли совпадение точки просачивания с ОПЭ. Через 2 часа после подконъюнктивальных инъекций даларгина у всех пациентов I группы с ЦХРП в 1,5-2 раза улучшались зрительные функции, на 50 ± 19 мкм уменьшалась высота ОПЭС, на ± 20 мкм – ОНЭС, на 100-150 мкм уменьшалась ее протяженность. У этой группы пациентов через 1,5 месяца после лечения отмечали полное прилегание ОПЭС, разрешение ОНЭС. Во II группе, где проводилась субпороговая ЛКС в сроки 1-2 недели после обращения, на фоне инъекций даларгина под конъюнктиву, с учетом высоты ОПЭС, отслойки нейрорепителлия (ОНЭ) и их протяженности, наличии альтерации РПЭ по данным ОСТ. В своих наблюдениях по данным ОСТ отметили нарушение взаимодействия между мембраной Бруха и РПЭ, предполагая, что изменения происходят на молекулярном уровне. После комплексного лечения пациентов во II группе через 6-8 недель отмечалось разрешение отслойки ОПЭС и ОНЭ. В этой группе не было отмечено рецидивов в сроки наблюдения до 5 лет, а также образования хориоидальной неоваскулярной мембраны. У всех пациентов после комплексного лечения отмечены достаточно высокие зрительные функции.

Во II группе, при наличии рецидива ЦСХР в момент обращения, ЛКС проведена в сроки 1-2 недели после обращения, с учетом высоты отслойки нейрорепителлия (ОНЭ) и протяженности её отслойки (700-800 мкм), наличии альтерации РПЭ по данным ОСТ.

Результаты клинических исследований ($\frac{\text{до лечения}}{\text{после лечения}}$)

Группа	VIS	Макулярная ЭРГ, «А» мка	Макулярная ЭРГ, «В» мка	Толщина сетчатки в макуле, мкм
I	$\frac{0,45 \pm 0,05}{0,9 \pm 0,06}$	$\frac{4,9 \pm 1,6}{5,2 \pm 0,7}$	$\frac{11,8 \pm 3,1}{14,9 \pm 2,6}$	$\frac{240,1 \pm 28,2}{170,8 \pm 14,3}$
II	$\frac{0,35 \pm 0,05}{0,8 \pm 0,05}$	$\frac{4,5 \pm 1,3}{5,1 \pm 0,8}$	$\frac{10,8 \pm 3,1}{14,7 \pm 2,8}$	$\frac{280,2 \pm 20,3}{180,2 \pm 15,1}$

После лечения пациентов в первой группе в течение 2-3 недель отмечалось разрешение отслойки РПЭ и ОНЭ. В этой группе не отмечены рецидивы в сроки наблюдения (до 5 лет).

Во второй группе разрешение отслойки ПЭ и ОНЭ отмечалось в течение 1-1,5 месяцев. В данной группе отмечены рецидивы ЦСХР через 1,5 – 2 года в 25% случаев.

В обеих группах в наблюдаемый период 5 лет не отмечено образования хориоидальной неоваскулярной мембраны (ХНМ). В обеих группах у всех пациентов после комплексного лечения отмечены высокие зрительные функции.

Выводы 1. Применение даларгина в диагностике у пациентов с центральной серозной хориоретинопатией целесообразно, так как позволяет в динамике анализировать высоту и диаметр ОПЭС и толщину хориоидеи, воздействовать на лимфатический коллектор вокруг диска и макулы, связывая их с супрахориоидальным пространством, способствуя оттоку субретинальной жидкости.

2. Использование даларгина в лечении у пациентов с ЦСХРП позволяет повысить зрительные функции в 2-2,5 раза, значительно улучшить показания макулярной ЭРГ и способствует ликвидации отслойки пигментного эпителия и нейроэпителия сетчатки.

3. Даларгин благоприятно воздействует на микроциркуляцию, вследствие чего улучшаются обменные процессы, восстанавливается лимфодренаж, усиливается действие субпорогой лазеркоагуляции, что способствует восстановлению целостности пигментного и нейроэпителия сетчатки и разрешения ишемии в слое хориокапилляров.

4. ЛКС в сочетании с даларгином физиологически воздействует на РПЭ, НЭ и способствует профилактике развития скрытой ХНВ.

Список литературы

1. Шуко А.Г., Злобина А.Н., Юрьева Т.Н. Этиопатогенетические подходы к диагностике и лечению острой и хронической центральной серозной хориоретинопатии. Обзор литературы// Офтальмология. 2013, 10: 2: 14-19.
2. Мальцев Д.С., Куликов А.Н. Топографическая идентификация точки просачивания при центральной серозной хориоретинопатии : расширенный подход// Современные технологии в офтальмологии. 2018; 1: 249-251.
3. Бородин Ю.И., Богатова Н.П., Ноговицина С.Р. и др. Лимфатическая система глаза// Вестник офтальмологии. 2018; 2: 86-90.
4. Панков О.П. Применение антиоксидантов в лечении глазных болезней. М: Родник здоровья; 2000. 122с.

5. Шелковникова Т.В., Ущeko В.А., Дудинов О.О. Результаты комплексного хирургического лечения острой непроходимости сосудов сетчатки и зрительного нерва. Вопросы диагностики и лечения глазных заболеваний: Тезисы докладов II научно-практической конференции МНТК МХГ. Новосибирск; 1990: 32-33.
6. Шелковникова Т.В., Тахчиди Х.П. Даларгин в комплексном лечении центральной серозной хориоретинопатии// Клиническая Геронтология. 2013; 19(910): 92.
7. Шелковникова Т.В., Баркова Н.Ю. Комплексное лечение центральной серозной хориоретинопатии. Офтальмология Восточная Европа, 2016; 4: 585-587.
8. Шелковникова Т.В., Тахчиди Х.П., Баркова Н.Ю. и др. Даларгин в комплексном лечении центральной серозной хориоретинопатии. Материалы VII Всероссийский (и зарубежья) семинар - «Круглый стол» «Макула 2016». Ростов-на - Дону; 2016: 625-627.
9. Шелковникова Т.В., Тахчиди Х.П., Вавин Г.В. и др. Комплексное лечение макулярного отека у пациентов с окклюзией вен сетчатки и нарушениями в системе гемостаза. Клиническая офтальмология, 2018;4:203-208.
10. Шелковникова Т.В., Тахчиди Х.П., Баркова Н.Ю. и др. Некоторые аспекты патогенеза и комплексного лечения диабетического макулярного отека на фоне сахарного диабета 2-го типа//Российская детская офтальмология, 201
11. Шелковникова, Т.В. Способ лечения макулярного отека у пациентов с сосудистой патологией сетчатки//Патент RU № 2614105 -C1-2015. [Shelkovnikova, T.V. The method of treatment of macular edema in patients with vascular pathology of the retina // Patent RU №. 2614105-C1-2015 (in Russian)].

ВОЛЧАНОЧНЫЙ АНТИКОАГУЛЯНТ У ПАЦИЕНТОВ С ВАСКУЛИТОМ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА

Шелковникова Т.В.^{1,2}, Кацадзе Ю.Л.⁴, Вавин Г.В.⁵, Баркова Н.Ю.^{4,6}, Барбараш О.Л.^{4,6}, Трубникова О.А.^{4,6}, Балашова Л.М.^{1,3}, Салмаси Ж.М.³

¹НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, г. Москва

²ООО Медицинская клиника «Новелла», г. Кемерово, Россия

³ФГАОУ ВО Российский Национальный Исследовательский Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

⁴ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург

⁵Кузбасская клиническая больница им. С.В. Беляева, г. Кемерово

⁶Научно исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия

Цель исследования. Клинико-лабораторные исследования системы гемостаз, ВА у пациентов с васкулитом зрительного нерва.

Материалы и методы. Проанализированы амбулаторные карты и истории болезни 44 человек (48 глаз), из них патология на двух глазах - 4 человека (8 глаз). Мужчин – 24, женщины – 20, возраст от 17 до 35 лет. Длительность наблюдения от 3 мес. до 5 лет.

Стандартные офтальмологические методы исследования и специальные методы исследования. Лабораторные методы исследования гемостаза. Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами.

Результаты исследования и обсуждения. Нейропатия типа венозного стаза - 29 человек, нейропатия по типу застойного диска – 15 человек.

У пациентов молодого возраста на фоне вирусной инфекции с повреждением зрительного нерва по клинической форме - нейропатия типа венозного стаза, ВА - 72,5% случаев. У пациентов с повреждением зрительного нерва ВА выявлены нарушения в сосудисто-тромбоцитарном и плазмокоагуляционном звеньях в системе гемостаза.

Заключение. ВА значительно снижает тромборезистентность эндотелия микроциркуляторного русла сетчатки и усиливает гиперкоагуляцию, ломает естественную регуляцию системы гемостаза и усугубляет ишемию сетчатки, зрительного нерва, участвует в патогенезе клинических форм васкулита зрительного нерва.

CLINIC - LABORATORY CHANGES IN THE HEMOSTASIS SYSTEM,

lupus anticoagulant in patients with optic nerve vasculitis

Shelkovnikova T.V.^{1,2}, Katsadze Y.L.⁴, Vavin G.V.^{4,6}, Barkova N. Yu.^{4,6}, Barbarash O.L.^{4,6}, Trubnikova O.A.^{4,6}, Balashova L.M.^{1,3}, Salmasi G.M.³

¹International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

²LLC Medical Clinic "Novella", Kemerovo, Russia

³FSBEI HE Russian National Research University named after N.I. Pirogov, Ministry of Health of Russia, Moscow

⁴The Russian Scientific and Research Institute for Hematology and Transfusiology, St.- Petersburg

⁵Kemerovo Regional Clinical Hospital named after S.V. Belyaeva, Kemerovo, Russia

⁶Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

Purpose of the study. Clinical and laboratory studies of the hemostasis system, LA in patients with optic nerve vasculitis.

Materials and methods. Outpatient cards and case histories of 44 people (48 eyes) were analyzed, including pathology in two eyes - 4 people (8 eyes). Men - 24, women - 20, age from 17 to 35 years. Duration of observation from 3 months. up to 5 years.

Standard ophthalmic research methods and special research methods. Laboratory methods for the study of hemostasis. The detection of lupus anticoagulant (LA) was carried out using venom tests, as well as confirmatory tests with donor plasma and correcting phospholipids.

Research results and discussion. Neuropathy of the type of venous stasis - 29 people, neuropathy of the type of stagnant disc - 15 people.

In young patients against the background of a viral infection with damage to the optic nerve in clinical form - neuropathy of the venous stasis type, LA - 72.5% of cases. In patients with LA optic nerve damage, abnormalities in the vascular-thromocytic and plasma-coagulation links in the hemostatic system were revealed.

Conclusion. LA significantly reduces thromboresistance of the endothelium of the retinal microvasculature and enhances hypercoagulation, breaks the natural regulation of the hemostasis system and aggravates ischemia of the retina, optic nerve, participates in the pathogenesis of clinical forms of optic nerve vasculitis.

Вступлениe. В настоящее время отмечается рост сосудистая патология сетчатки и зрительного нерва среди пациентов молодого и среднего возраста, у которых часто не удается установить причину заболевания и назначить адекватную терапию. Недостаточно изучены неполные тромбозы центральной вены сетчатки (НТЦВС) у молодых [1]. В научной литературе НТЦВС у молодых описан под различными терминами: папиллофлебит, васкулит диска зрительного нерва , ретинопатия венозного стоаза у молодых, неполный тромбоз центральной вены сетчатки, ретиальный васкулит [2].

Зарубежные клиницисты и ученые рассматривает это заболевание как локальный эндогенный васкулит, проявляющийся аллергической реакцией на бактериальные, вирусные и другие антигены. Протекает в двух формах – картине своеобразного застойного соска или тромбоза центральной вены сетчатки в зависимости от того, где очаг поражения – в пре- или ретраламиллярной части зрительного нерва. [3,4]

В последние годы появились сообщения о роли антител к фосфолипидам в механизме сосудистого повреждения и тромбообразования у пациентов с ретинальными артериальными и венозными окклюзиями, передней ишемической нейропатией, идеопатической серозной хориоретинопатией и формированием хориоидальной неоваскулярной мембраны. [5].

Наличие АФА (антифосфолипидные тела) относится к тромбофилии. Тромбофилия - это состояние повышенной склонности организма к тромбообразованию, которое связано с нарушением баланса между свертывающей и противосвертывающей системами гемостаза, предрасположенности к раннему развитию и рецидивированию сосудистых венозных и артериальных тромбозов с различной локализацией и облитерацией сосудов. Тромбофилия может быть, как генетической, так и приобретенной [6, 7, 8, 9,10]. АФА - гетерогенная группа иммуноглобулинов; различают 3 вида: антитела к кардиолипину (аКЛ), антитела к β -2-гликопротеину-1 и волчаночный антикоагулянт (ВА). В результате проведенных лабораторно-иммунологических исследований установлено, что большинство АФА принадлежит к иммуноглобулинам класса G и M. Они блокируют фосфолипид-белковые комплексы плазмы крови, клеточных мембран эндотелия, тромбоцитов и других клеток. Это проявляется, с одной стороны, снижением тромборезистентности эндотелия и активацией тромбоцитарного гемостаза, а с другой - дисбалансом в системе коагуляционного гемостаза. Эти нарушения характеризуются *in vitro* развитием гипокоагуляции в фосфо-липидзависимых тестах, которые выявляется комплексом специальных лабораторных методик и обозначается как эффекты АФА, обладающие свойствами волчаночных антикоагулянтов. Изучение коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного звеньев системы гемостаза в присутствии ВА у пациентов с повреждением зрительного нерва актуально [11, 12, 13,14].

Цель исследования. Клинико-лабораторные исследования системы гемостаза, ВА у пациентов с васкулитом зрительного нерва.

Материалы и методы. Проанализированы амбулаторные карты и истории болезни 44 человек (48 глаз), из них патология на двух глазах- 4 человека (8 глаз). Мужчин – 24, женщин –20, возраст от 17 до 35 лет. Длительность наблюдения от 3мес. до 5 лет.

Стандартные офтальмологические методы исследования и специальные методы исследования: осмотр глазного дна с линзой Гольдмана, ФАГ глазного дна, ОСТ. Лабораторные методы исследования гемостаза. Исследования системы гемостаза проводились скрининговыми и специальными методами автоматизированной коагулометрии: определение активности фактора Виллебранда (ФВ), антитромбина III, АПС, VIIIф; количественное определение растворимых фибринмономерных комплексов (РФМК); количественное содержание фибриногена по Клаусу. Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА) проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами.

Результаты исследования.

Нейропатия типа венозного стаза с ретинальным тромбогеморрагическим синдромом с высоким кистозным макулярным отеком- 29 человек, нейропатия по типу застойного диска с кистозным макулярным отеком – 15 человек.

Результаты исследования некоторых параметров гемостаза у пациентов с повреждением зрительного нерва ВА: фактор Виллебранда повышен ($145\% \pm 3,4\%$) у 78% пациентов. Фактор Виллебранда понижен ($72\% \pm 3,4\%$) у 22% пациентов. РФМК повышены ($7,5 \text{ мг}\% \pm 3,6\%$) у 50% пациентов. Гиперагрегация тромбоцитов с индукторами: с АДФ, коллагеном, ристомичином, адреналином в 64% случаев. ВА выявлен 72,5% случаев в титре 1,4-1,5 на фоне герпес вирусной и цитомегаловирусной инфекции у пациентов по клинической форме - нейропатия типа венозного стаза с ретинальным тромбо-геморрагическим синдромом и с высоким кистозным макулярным отеком. ВА в 18,5% случаев в титре 1,3-1,4 -клинической формы повреждения ДЗН по типу застойного диска на фоне обострения хронического тонзиллита. ВА, также найден в крови у пациентов : с туберкулезом легких по типу застойного диска 1 человек (2 глаза) 2,27%, системная красная волчанка по типу застойного диска 1 человек (2 глаза) – 2,27%; АФС – синдром : острая непроходимость центральной артерии сетчатки (ЦАС) на 2 глазах 2,27%. Миелопролиферативное заболевание с повреждением зрительного нерва по типу застойного диска 1 человек (2 глаза) 2,27%.

При обследовании пациентов выявлено: умеренно высокие титры иммуноглобулина Jg G к вирусу герпеса, цитомегаловирусу 1:600 ÷ 1:800, в 72,5% случаев у пациентов с повреждением зрительного нерва ВА.

Заключение и выводы.

1. У пациентов молодого возраста с повреждением зрительного нерва ВА по клинической форме - нейропатия типа венозного стаза с тромбогеморрагическим синдромом на фоне вирусной инфекции встречается в 72,5% случаев.

2. Вирусная мимикрия запускает и потенцирует каскад эндотелиально- тромбоцитарных сосудистых реакций , подобных действию АФА, усиливает каскадные реакции ВА, что выражается клинически локальным тромбогеморрагическим синдромом в микроциркуляторном русле сетчатки и зрительного нерва , участвует в патогенезе инфекционно- аллергического повреждения зрительного нерва .

3. У пациентов с повреждением зрительного нерва ВА выявлены нарушения в системе гемостаза в виде тромбофилии: эндотелиально-тромбоцитарной, гипер и гипокоагуляции.

4. Исследование нарушений в системе гемостаза и уровня ВА в крови у лиц молодого возраста с повреждением зрительного нерва инфекционно –аллергического характера информативно для диагностики, клиники и лечения.

Литература:

1. Гуртовая Е.Е., Форофонова Т.И., Лысенко В.С. Васкулит диска зрительного нерва//Актуальные вопросы патологии сетчатой оболочки и зрительного нерва/ Под редакцией К.В. Трутневой.М., 1982. – С 46-48.

2. Горяинова Л.А. Шелковникова Т.В., Клиника и диагностика васкулита зрительного нерва.// Вопросы реабилитации при глазных заболеваниях.- Кемерово, 1989, с. 61-62.

3.Кацнельсон Л.А., Форофонова Т.И, Бунин А.Я.Сосудистые заболевания глаза.1990.с.269.

4. Кацадзе Ю.Л. , Шелковникова Т.В. Волчаночный антикоагулянт (ВА), как проявление инфекционно-аллергического статуса и патогенеза васкулита зрительного нерва (ВЗН) //Материалы седьмой Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» 29-31 января 2015 г.- М., НЦССХ им. А.Н. Бакулева. - с .199.
5. Павлюченко К.П., Мухина Е.В., Майлян Э.А. Роль антифосфолипидных антител при ишемических заболеваниях сетчатки и зрительного нерва. // Офтальмологический журнал, 2003; 6; 43-48.
6. Т. В. Смирнова, Н. Л. Козловская, Т. Н. Киселева, Э. Г. Елисеева, Е. А. Кравчук, М.В. Будзинская, Э. Э. Казарян. Передняя ишемическая нейропатия, ассоциированная с антифосфолипидным синдромом // Вестник офтальмологии, 2006;
7. Шелковникова Т.В., Девятова В.А., Архипова Е.И., Болтовская О.Г. Исследование волчаночного антикоагулянта у пациентов с сосудистой патологией сетчатки и зрительного нерва Российский общенациональный форум: сборник научных трудов.- Москва. 2008. с.115-116.
8. Шелковникова Т.В., Анешина И.И., Бойко Е.А., Болтовская О.Г. Исследование на тромбофилию пациентов с сосудистой патологией сетчатки и зрительного нерва. Российский общенациональный форум: сборник научных трудов.- Москва. 2009., с.157-160.
9. Шелковникова Т.В., Значение волчаночного антикоагулянта в патогенезе сосудистой патологии сетчатки и зрительного нерва // Медицина в Кузбассе / - №6.-2009, с. 99.
10. Шелковникова Т.В., Тромбофилии в патогенезе сосудистой патологии сетчатки и зрительного нерва // Медицина в Кузбассе / - №6.-2009. с.98.
11. Шелковникова Т.В. Значение тромбофилических факторов в патогенезе сосудистой патологии сетчатки и зрительного нерва Тез. IX съезд офтальмологов России.-2010, Москва. с. 290 (16-18 июня 2010г)
12. Шелковникова Т.В., Архипова А.И. Инновации в диагностике васкулита зрительного нерва. В сборнике: Материалы Юбилейной научно-практической конференции «Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения», Томск. 20-21 ноября 2014. Томск: изд-во «Печатная мануфактура», 2014.-106с. С. 97-98.
13. Шелковникова Т.В. ВЛИЯНИЕ ВОЛЧАНОЧНОГО АНТИКОАГУЛЯНТА НА ГЕМОСТАЗ У ПАЦИЕНТОВ С ОККЛЮЗИЕЙ ВЕН СЕТЧАТКИ Вестник гематологии.// 2017. Т. 13. № 3. С. 72-73.
14. Шелковникова Т.В., Кацадзе Ю.Л., Вавин Г.В. ВОЛЧАНОЧНЫЙ АНТИКОАГУЛЯНТ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С МАКУЛЯРНЫМ ОТЕКОМ НА ФОНЕ ОККЛЮЗИИ ВЕН СЕТЧАТКИ // Вестник гематологии. 2018. Т. 14. № 1. С. 61-62.

УВЕИТЫ И ЭКССУДАЦИЯ В ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЕ: ИАГ-ЛАЗЕРНОЕ ЛЕЧЕНИЕ

Иванов А.Н., Танковский В.Э..

ФГБУ "НМИЦ им. Гельмгольца" МЗ РФ, Москва.

Аннотация. В настоящее время существует два способа лечения экссудации передней камеры и фиброза стекловидного тела глаза: консервативный и хирургический. Представляется актуальным поиск новых методов воздействия на экссудат передней камеры и фиброз стекловидного тела глазного яблока. При ИАГ-лазерном воздействии отмечается повышение остроты зрения, обусловленное разрушением соединительной ткани и усилением эффекта консервативной терапии.

Ключевые слова. ИАГ-лазерный витреолизис, ИАГ-лазерная деструкция, фиброз стекловидного тела, экссудация передней камеры.

Uveitis and exudation in the anterior chamber – YAG-laser treatment.

Ivanov A.N., Tankovsky V.E.

FSBI "NMHC im. Helmholtz" Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow.

Annotation. Currently, there are two ways to treat anterior chamber exudation and vitreous fibrosis of the eye: conservative and surgical. It seems relevant to search for new methods of influencing the anterior chamber exudate and vitreous fibrosis of the eyeball. With YAG laser exposure, there is an increase in visual acuity due to the destruction of connective tissue and an increase in the effect of conservative therapy.

Keywords. YAG-laser vitreolysis, YAG-laser destruction, vitreous fibrosis, anterior chamber exudation.

Актуальность. У пациентов с генерализованными увеитами нередко развивается экссудативный выпот в переднюю камеру и фиброз стекловидного тела, который в значительной мере снижает функциональные результаты и удлиняет курс лечения.

В настоящее время существует два способа лечения фибринозных изменений: консервативный и хирургический. Консервативное лечение направлено на ускорение резорбции соединительнотканых элементов, однако, оно требует длительного времени. При хирургии отмечается быстрый эффект и метод является основным, особенно когда фибринозные изменения в стекловидном теле сопровождаются тракционным синдромом и отслоением сетчатки. Необходимо отметить, что при витреоретинальных вмешательствах возможность осложнений колеблется в пределах 15-46% [2, 4].

В связи с этим представляется актуальным поиск новых методов воздействия на экссудативные процессы передней камеры и стекловидного тела без вскрытия глазного яблока.

Цель исследования: определение возможности проведения и эффективности ИАГ-лазерной деструкции и последовательного витреолизиса у больных с экссудацией в передней камере при артериальной гипертензии и фиброзом стекловидного тела при эндогенных генерализованных и посттравматических увеитах.

Материалы и методы. Для ИАГ-лазерного воздействия использована лазерная установка "Visulas-YAG II" фирмы "Karl Zeiss" (Германия). Энергия импульса 0,8-10,0 мДж, количество импульсов от 2 до 150, количество сеансов 1-12. Критерием окончания сеанса служило состояние влаги передней камеры и стекловидного тела - насыщенность фрагментами разрушенных деструктивных элементов, суммарная энергия ИАГ-лазерного воздействия до 700 мДж (рассчитанная в экспериментальных исследованиях) [3].

Экссудация при наличии ИОЛ может проявляться в виде точечных преципитатов, выраженных "сальных" и выплотов до тотального покрытия ими поверхности ИОЛ (рис. 1), с формированием экссудативного конгломерата больших размеров и распространением его в передней и задней камере [1, 5]. Такая патология была представлена у 18 больных. При плотных и объемных процессах ИАГ-лазерное вмешательство проводили дробно с контролируемым процессом лизиса (рис. 2) до очищения поверхности ИОЛ (рис. 3).

Лечение с применением ИАГ-лазера было проведено 45 больным, из них 7-ми пациентам с эндогенными генерализованными увеитами (8 глаз) и 38 больным с постоперационными увеитами. ИАГ-лазерное воздействие проводилось на фоне базовой терапии (местно и системно кортикостероиды, при необходимости антибактериальное и противовоспалительное лечение).

На фоне консервативной терапии под местной инстилляционной анестезией производят ИАГ-лазерное деструктивное воздействие на экссудативный конгломерат и на поверхность цели или опосредованно, типа массажного воздействия при визуализации влаги передней камеры. При необходимости лазерное воздействие повторяют до необходимого эффекта [4].

ИАГ-лазерное воздействие на стекловидное тело осуществляли 45 больным после проведения клинического обследования и локализации фиброза ультразвуковыми методами исследования (объем, акустическая плотность) на фоне максимального мидриаза в амбулаторных или стационарных условиях под местной анестезией.

По мере лизиса объекта воздействия сеанс повторяли и при необходимости увеличивали энергию ИАГ-лазерного воздействия от щадящего (без повреждения клеток эндотелия, поверхности ИОЛ, фибрилл стекловидного тела) до разрушающего деструктивные образования. В перерывах между сеансами проводили контроль ВГД и лечение.

Возраст больных от 25 до 67 лет (средний возраст 41,5 года). У всех больных имелся фиброз стекловидного тела различной степени, причем глазное дно четко не визуализировалось, особенно это касалось заднего полюса. Экссудат в передней камере был отмечен у 38-ми пациентов (38 глаз).

Предшествующая консервативная терапия не оказала значительного положительного эффекта, поэтому к курсу лечения был добавлен ИАГ-лазерный витреолизис или деструкция экссудата в передней камере.

Результаты. После проведенного лечения воспалительный процесс был купирован у всех больных. Отмечено достоверное ($P < 0,05$) повышение остроты зрения у 30-ти пациентов из них у 25-ти на 0,2 – 0,4 и у 5-ти на 0,1 – 0,2, у 11-ти пациентов острота зрения не изменилась в связи с наличием рубцовых изменений в макулярной области, которые были выявлены только после проведения комплексного лечения. Однако, несмотря на проводимое лечение у 4-х пациентов отмечено снижение остроты зрения. Дистрофических изменений со стороны роговицы отмечено не было во всех случаях ИАГ-лазерной реконструкции передней камеры.

При комплексном лечении с использованием ИАГ-лазерного воздействия, экссудат лизировался в течение 2-3 суток, кровотечение из рядом проходящих сосудов отмечено в двух случаях, показатели ВГД в процессе ИАГ-лазерного воздействия увеличились на 2-6 мм рт.ст. (это в случаях, когда было высокое ВГД до вмешательства), у 3-х пациентов отмечено снижение ВГД до нормального в связи с освобождением путей оттока внутриглазной жидкости. Рецидив экссудативного процесса в 4-х случаях в течении полугода наблюдения.

Выводы. Короткоимпульсное ИАГ-лазерное облучение экссудата и влаги передней камеры ведет к лизису экссудативных образований.

1. ИАГ-лазерное отсечение основы конгломерата от периферических тяжей способствует ускорению лизиса разрушенных экссудативных образований, нормализации состояния сосудов и улучшению прозрачности роговой оболочки.
2. Неодимиевое ИАГ-лазерное воздействие при экссудативных образованиях в передней камере и на поверхности ИОЛ, который целесообразно использовать при отсутствии эффекта консервативной терапии.
3. ИАГ-лазерный витреолизис стекловидного тела и деструкцию экссудата в передней камере можно применять у больных с увеитами на различных стадиях процесса усиливает эффект консервативной терапии.
4. ИАГ-лазерное вмешательство необходимо проводить с осторожностью, так как на фоне лечения возможен рецидив увеита.

Список литературы.

1. Бакуткин В.В. Лазерная коррекция осложнений в переднем сегменте глаза при хирургическом лечении катаракт. // Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - М. - 1993 - 40 с.
2. Глинчук Я.И. Роль витректоми в лечении заболеваний глаз травматической, дегенеративной и воспалительной этиологии. // Дисс. ... докт. мед. наук. - М. - 1987 - 378 с.
3. Гундорова Р.А., Степанов А.В., Иванов А.Н. - Использование ИАГ-лазеров при посттравматической патологии переднего отдела глаза. // Методические рекомендации, - М., - 1990, - 20 с.
4. Степанов А.В. Лазерная реконструктивная офтальмохирургия. // Дисс. ... докт. мед. наук. - М. - 1991 - 352 с.
5. Федоров С.Н. Имплантация искусственного хрусталика. // М. - 1977 - 207 с.

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛАУКОМЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ YAG-ЛАЗЕРА С УДВОЕНИЕМ ЧАСТОТЫ

Кремкова Е.В.¹, Новодережкин В.В.², Рабаданова М.Г.¹

¹ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

²ГКБ № 15 им. О.М. Филатова, г. Москва

Резюме.

Цель: оценка эффективности применения YAG-лазера с удвоением частоты.

Материалы и методы: под наблюдением находились пациенты с ПОУГ в I-II стадии процесса с высоким ВГД, которое не снижалось медикаментозно. В основной группе 31 чел. (38 глаз), которым лазерное лечение проводилось с использованием импульсного зеленого излучения второй гармоники YAG-лазера с длиной волны 532 нм. В контрольной группе 26 чел. (28 глаз), им лечение выполнялось с использованием синие-зеленого излучения аргонowego лазера с длиной волны 482 и 514 нм. Всем больным осуществлялось комплексное офтальмологическое обследование

Результаты: Изучено 57 пациентов в возрасте 19–83 года после проведенного лазерного лечения. Его результаты оценивались на 3, 7, 14, 21 и 30 день после лечения. Динамическое наблюдение осуществлялось через 6, 12, 18 месяцев. В основной группе послеоперационный период протекал более гладко, чем в контрольной. Нормализация офтальмотонуса в основной группе было у 95 % больных, в контрольной у 94 %. Острота и поле зрения у всех больных были без перемен.

Выводы: Офтальмологический импульсный YAG-лазер с удвоением частоты зарекомендовал себя положительно, что позволяет использовать его для проведения хирургических вмешательств с целью компенсации офтальмотонуса у больных с ПОУГ на фоне высокого ВГД.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) компенсация офтальмотонуса, YAG-лазер с удвоением частоты.

NEW OPPORTUNITIES FOR LASER TREATMENT OF GLAUCOMA USING A YAG-LASER WITH FREQUENCY DOUBLING

Kremkova E. V.¹, Novoderezhkin V. V.², Rabadanova M. G.¹

¹Russian National Research Medical University named after Pirogov N. I., Moscow

²Clinical Hospital 15 named after Filatov O. M., Moscow

Summary.

Purpose: Evaluate the efficiency of using a frequency-doubling YAG-laser.

Material and methods: Patients with POAG in stages I–II of the process with high IOP, which was not reduced by medication, were monitored. The main group consisted of 31 people (38 eyes) who underwent laser treatment using pulsed green radiation of the second harmonic of a YAG-laser with a wavelength of 532 nm. The control group consisted of 26 people (28 eyes). They were treated using blue-green argon laser radiation with a wavelength of 482 and 514 nm. All patients underwent a comprehensive ophthalmological examination.

Results: 57 patients aged 19–83 years were studied. After laser treatment. Its results were evaluated on days 3, 7, 14, 21 and 30 after treatment. Dynamic follow-up was performed after 6, 12 and 18 months. In the main group, the postoperative period proceeded more smoothly than in the control group. Normalization of ophthalmotonus in the main group was observed in 95 % of patients, in the control group – in 94 %. Visual acuity and field of vision were unchanged in all patients.

Conclusions: The ophthalmic pulsed YAG–laser with frequency-doubling has proved to be a positive one, which allows us to recommend it for surgical interventions to compensate for ophthalmotonus in patients with POAG on the background of high IOP.

Key words: primary open-angle glaucoma (POAG) ophthalmotonus compensation, YAG–laser with frequency-doubling.

Лазерная хирургия приводит к умеренно выраженному реактивному синдрому и осуществляется без вскрытия полости глазного яблока. Она эффективно способствует нормализации зрительных функций на достаточно длительный период времени и в ряде случаев позволяет избежать оперативного лечения глаукомы. Хирургов привлекает относительная малая травматичность тканей, дозированность проводимого вмешательства и хорошая переносимость лазерного воздействия, сравнительно короткий реабилитационный период, возможность проведения лазерных операций в амбулаторных условиях. В связи с появлением новых видов лазерных источников, отличающихся как спектральным составом излучения, так и режимами генерации, диапазон клинического применения лазерных методов в офтальмологии в современном мире постоянно расширяется.

Цель работы: оценка эффективности применения YAG-лазера с удвоением частоты.

Материал и методы исследования. Было изучено 57 больных в возрастной группе 19–83 года с ПОУГ I–II стадии с высоким ВГД несмотря на гипотензивную терапию. Основная группа – 31 человек (38 глаз), лазерное лечение им проводилось с применением импульсного зеленого излучения второй гармоники YAG-лазера с длиной волны 532 нм. Контрольная группа – 26 человек (28 глаз) лечение им осуществлялось с использованием сине-зеленого излучения аргонового лазера с длиной волны 488 и 514 нм. Комплексное офтальмологическое обследование проводилось большим числом групп: визометрия с коррекцией аметропии; периметрия на полусферическом периметре «Carl Zeiss» (по общепринятой методике); биомикроскопия наружных отделов и переднего отрезка глазного яблока на щелевой лампе фирмы «Carl Zeiss»; гониоскопия с помощью линзы Гольдмана или Ван Бойнингена; офтальмоскопия в прямом виде; тонометрия для измерения истинного ВГД на бесконтактном тонометре фирмы «ТОРCON»; тонометрия по Гольдману и Маклакову. Результаты лазерного лечения оценивались на 3, 7, 14, 21 и 30 день после операции. Динамическое наблюдение осуществлялось через 6, 12, 18 месяцев.

В лечении основной группы больных нами был использован YAG-лазер с удвоением частоты ($\times 2h$) – оригинальная отечественная модель YAG-лазера «Оптимум» В котором источником излучения является алюмоиттриевый гранат с примесью неодима, работающий в режиме модуляции добротности и удвоением частоты излучения ($\lambda=532$ нм). Нами при лазерном воздействии применялась вторая гармоника – зеленый импульсный свет. Параметры: диаметр фокального пятна 10–20 мкм; энергия в импульсе до 10 мДж; длительность импульса 20×10^{-9} сек.

Результаты исследования. У пациентов основной группы под эпibuльбарной анестезией лазерное воздействие ЛТП 270° проводилось с применением YAG-лазера с удвоением частоты. На глаз устанавливался гониоскоп, пилотный луч лазера фокусировался на трабекуле над просветом шлеммова канала. Равномерно и линейно наносились аппликаты в количестве до 60–90 в секторе 270°. На месте аппликата возникало побледнение трабекулы или парогозовый пузырь.

Лазерное воздействие – АЛТП 270° с использованием аргонового лазера «Ultima» было произведено пациентам контрольной группы. Эффективность импульсного зеленого излучения оказалась соизмерима с применением аргонового лазера. Всем больным в послеоперационном периоде назначалась «стандартная» местная и общая терапия.

Динамика P₀ и реактивного синдрома в послеоперационном периоде

(YAG-лазер с удвоением частоты ЛТП 270°)

Сроки (сутки)	P ₀ / к-во глаз			Уровень воспаления / к-во глаз		
	до 25	до 30	более 30	низкий	средний	высокий
3	22	13	3	22	12	4
7	27	9	2	22	11	5
14	34	4	-	33	5	-
21	38	-	-	3	-	-
30	38	-	-	-	-	-

Динамика P₀ и реактивного синдрома в послеоперационном периоде (АЛТП 270° – контроль)

Сроки (сутки)	P ₀ / к-во глаз			Уровень воспаления / к-во глаз		
	до 25	до 30	более 30	низкий	средний	высокий
3	14	11	3	16	8	4
7	15	12	1	16	10	2
14	24	4	-	20	8	-
21	28	-	-	5	-	-
30	28	-	-	-	-	-

Состояние P₀ до и через 18 мес. после лазерных антиглаукоматозных вмешательств

№	Виды операций	Пациенты			К-во глаз	P ₀	
		м	ж	всего		до	после
1	ИАГ с удвоением частоты 270°	14	17	31	38	28,9±2,7	17,9±1,2
2	АЛТП 270°	9	17	26	28	29,0±3,0	18,1±1,2
	Всего	23	34	57	66		

Постоянно у пациентов обеих групп осуществлялся контроль за ВГД и зрительными функциями. Эффективность проводимого лечения, данные через 18 месяцев после лазерного воздействия. В основной группе острота зрения на 36 глазах была без изменения на 2-х глазах в связи с развитием катаракты она снизилась на 0,1. На 26 глазах в контрольной группе острота зрения осталась без изменения, на 2 снизилось – на 0,1 и на 2 – на 0,2 так же в связи с развитием катаракты. У всех больных 2-х групп поле зрения сохранилось без отрицательной динамики, офтальмотонус так же находился в пределах нормы. Со стороны ДЗН за время наших наблюдений изменений не отмечалось. Нормализация офтальмотонуса и стабилизация функций глаз, в основной группе достигнуты на 36 глазах – 95 % случаев. В контрольной группе нормализация ВГД и стабилизация функций достигнуты на 24 глазах - 94 % случаев.

Выводы.

1. Используемый импульсный YAG-лазер с удвоением частот зарекомендовал себя в клинике как эффективный инструмент, позволяющий проводить лазерные вмешательства, направленные на обеспечение компенсации офтальмотонуса при ПОУГ.

2. Лазерное воздействие ЛТП 270° с применением YAG-лазера с удвоением частоты оказало гипотензивный эффект в 95 % случаев при сроке наблюдения до 18 мес.

3. Лазерное воздействие ЛТП 270° с применением YAG-лазером с удвоением частоты создало щадящий режим воздействия на ткани глаза больных и доказало возможность его использования в качестве самостоятельного вида лазерного лечения ПОУГ.

Список литературы

1. *Анисимова Н.Ю., Анисимов С.И., Новак И.В.* Глаукома на рубеже тысячелетия: итоги и перспективы // Материалы Всерос. Научно-практ. конф. – М., 1999. – С.296–298.
2. *Кремкова Е.В., Новодережкин В.В., Рабаданова М.Г.* Особенности новых возможностей лазерной коррекции первичной открытоугольной глаукомы // Научно-практический журнал «Клиническая геронтология». Том 22, №9–10. 2016. С. 41–42.
3. *Нестеров А.П.* Глаукома. – М.: Медицинское информационное агентство, 2008.
4. *Новодережкин В.В.* Автореф. ... канд. мед. наук. – М., 1998.
5. *Ayala M, Chen E.* The influence of topical prostaglandin analogues in inflammation after selective laser trabeculoplasty treatment. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2012. Apr; 28(2):118-22.
6. *Bovell A.M., Damji K.F.* Long term effects on the lowering of intraocular pressure: selective laser or argon laser trabeculoplasty // *Can. J. Ophthalmol.* 2011. Vol. 46, №5. P. 408–413.
7. *Goldenfeld M, Geyer O, Segev E, Kaplan-Messas A, Melamed S.* Selective laser trabeculoplasty in uncontrolled pseudoexfoliation glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2011. Sep–Oct; 42(5): 390-3.
8. *Gracner T, Falez M, Gracner B, Pahor D.* Long-term follow-up of selective laser trabeculoplasty in primary open-angle glaucoma. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2006. Sep; 223(9):743-7.
9. *Hong B, Winner J, Martone J, Wand M, Altman B, Shields B.* Repeat selective laser trabeculoplasty. *J Glaucoma* 2009; 18(3): 180-3.

МЕДИКАМЕНТОЗНЫЕ УВЕИТЫ, КАК ВАРИАНТ

Танковский В.Э., Иванов А.Н.

Москва, ФГБУ МНИЦ глазных болезней, МЗ РФ, Москва.

Аннотация. Медикаментозные увеиты, или медикаментозно-индуцированные увеиты воспалительные изменения увеального тракта, вызванные применением лекарственных препаратов, причём, если их причинно-следственная связь доказана, а при отмене происходит стихание процесса. Лекарственный увеит может быть результатом системного или местного применения препарата, включая его интравитреальное введение.

Ключевые слова: увеит, лечение.

Medical uveitis, as an option.

Tankovsky V.E., Ivanov A.N.

FSBI SIC of Eye Diseases, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow.

Annotation. Drug-induced uveitis, or drug-induced uveitis, inflammatory changes in the uveal tract caused by the use of medications, moreover, if their causal relationship is proven, and when canceled, the process subsides. Medicinal uveitis may be the result of systemic or topical use of the drug, including its intravitreal administration.

Key words: uveitis, therapy.

Медикаментозные увеиты, или медикаментозно-индуцированные увеиты воспалительные изменения увеального тракта, вызванные применением лекарственных препаратов, причём, если их причинно-следственная связь доказана, а при отмене происходит стихание процесса. Лекарственный увеит может быть результатом системного или местного применения препарата, включая его интравитреальное введение.

Необходимо отличать увеиты, обусловленные непосредственно действием медикаментов, от увеитов, которые вызваны активацией инфекции при применении того или иного лекарственного вещества. Несмотря на то что медикаментозные увеиты известны более 45 лет, в плане дифференциальной диагностики офтальмологи им придают небольшое значение.

В своей практической работе мы столкнулись с кортикостероид-индуцированным поражением пигментного эпителия сетчатки.

Больной К., 27 лет, находился на лечении в отделении ревматологии с диагнозом ревматоидный полиартрит. В связи с основным заболеванием была назначена системная кортикостероидная терапия (метилпреднизолон, 500 мг, № 3 ежедневно). На фоне лечения у больного появились жалобы на затуманивание, искажение предметов, снижение остроты зрения обоих глаз.

При осмотре острота зрения OD 0,2 не корр., OS 0,3 не корр. ВГД OD 14 мм рт. ст., OS 16 мм рт. ст. Периметрия OU: в поле зрения мелкие относительные центральные скотомы. При биомикроскопии OU: передний отрезок не изменён, роговица прозрачная, передняя камера средней глубины, влага её прозрачная, зрачок правильной формы, реагирует на свет, радужка и хрусталик без особенностей, деструкция стекловидного тела. Глазное дно: д. з. н. бледно-розовый, границы чёткие, в макулярной зоне единичные точечные депигментированные фокусы, сочетающиеся с отслоением нейроэпителия.

По данным ОКТ, на OU имеется отслоение нейроэпителия, деструкция пигментного эпителия сетчатки.

Учитывая анамнез и клиническую картину, была заподозрена кортикостероид-индуцированная эпителиопатия (эпителиит) сетчатки.

Больному была отменена системная кортикостероидная терапия.

Однако процесс было необходимо дифференцировать с эпителиитом вследствие активации инфекции.

При исследовании крови с использованием полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа инфекционных агентов не выявлено.

Через 2 дня после отмены кортикостероидной терапии пациент отметил улучшение: жалобы уменьшились, острота зрения начала повышаться. Через 5 дней: острота зрения OD 0,7 не корр., OS 0,8 не корр. ВГД OD 12 мм рт. ст., OS 14 мм рт. ст. Периметрия OU: поле зрения в пределах нормы. При биомикроскопии OU: передний отрезок не изменён. Глазное дно: д.

з. н. бледно-розовый, границы чёткие, в макулярной зоне единичные точечные пигментированные фокусы. По данным ОКТ, на ОУ отслоенный нейроэпителий прилёг.

Клиническая картина и течение заболевания позволили поставить окончательный диагноз: ОУ кортикостероидиндуцированная эпителиопатия (эпителиит)сетчатки.

Довольно сложно установить, является ли введение кортикостероидов причиной медикаментозного увеита, так как эти лекарственные вещества широко применяются в терапии как системных, так и глазных заболеваний, поэтому трудно решить: поражение увеального тракта – это симптом основного процесса или же следствие воздействия медикаментов. Тем не менее, имеются некоторые доказательства того, что и кортикостероидная терапия может вызывать увеит. Т. Krupin et al. (1970) впервые сообщили о развитии переднего негранулематозного увеита у пациентов на фоне местной кортикостероидной терапии. J.C. Martins et al. (1974) привёл данные о появлении переднего увеита у пациентов, получавших кортикостероиды в течение 2,5–6 недель. В последнем случае отмена кортикостероидного препарата привела к купированию увеального процесса, что укладывается в клинические особенности медикаментозно-индуцированного увеита, но, чтобы доказать наличие последнего, необходимо исключить другие причины развития увеита, например, активацию инфекции.

Механизм развития медикаментозно-индуцированного увеита не совсем ясен. Полагают, что он может быть связан с токсичностью лекарственного вещества и иммунопосредованным васкулитом (D.H. Spitzberg 1980; Y. Caraco et al. 1992). Попадание препарата в организм может активизировать иммунную систему с последующим образованием аутоантител и формированием аутоиммунных реакций в течение недель или месяцев. Следующим возможным механизмом развития может быть стимулирование иммунного ответа инфекционными антигенами, которые появляются при массовой гибели микроорганизмов в глазу в результате воздействия антибиотиков, что приводит к гиперактивному антигенному стимулированию иммунной системы и развитию воспаления в увеальном тракте, как правило, в течение первых 24 часов. Также, по мнению С.Н. Choe et al. (2014) и С.Д. Conrady et al. (2018), в развитии медикаментозного увеита принимают участие меланин и меланин-связанные протенины.

Кроме кортикостероидов медикаментозно-индуцированные увеиты могут быть следствием применения бисфосфонатов (основной побочный эффект со стороны органа зрения – развитие склерита в первые 48 часов, который отмечен у 82 % больных и реже – увеита), цидофовира (увеит протекает с тяжёлой гипотонией и снижением остроты зрения, позже нередко обнаруживается гипотоническая макулопатия, макулярный отёк), рифабутина (у ряда пациентов развивается передний увеит, иногда с гипопионом, в стекловидном теле отмечается клеточная реакция вплоть до образования экссудата, который напоминает инфекционный эндофтальмит или панеофтальмит), фторхинолонов и сульфаниламидов.

Отдельно необходимо упомянуть об антагонистах фактора некроза опухоли (этанерцепт, инфликсимаб и адалимумаб). Несмотря на то, что эти препараты широко применяются в ревматологии, а также используются офтальмологами для купирования неинфекционных увеитов, их назначение может приводить к такой парадоксальной реакции, как появление увеита, несвязанного с основным заболеванием или наличием инфекции. По данным М. Ramos-Casals et al. (2010) до 10 % увеитов являются следствием медикаментозной терапии, проводимой антагонистами фактора некроза опухоли. Причём, все три препарата вызывают медикаментозно-индуцированное воспаление увеального тракта, но наибольшее количество увеитов зафиксировано при лечении этанерцептом (P.J. Hashkes et al., 2003; V. Kakkassery et al., 2010; С. Gaujoux-Viala, et al., 2012 и др.). Кроме того, описаны случаи перифлебита и хориоретинита. При отмене антагонистов фактора некроза опухоли и назначении кортикостероидов интраокулярный воспалительный процесс подвергался обратному развитию.

Заключение. Мы рассмотрели только некоторые из препаратов, которые могут вызывать медикаментозные увеиты, но круг этих лекарственных веществ значительно шире.

ПРЕЖДЕВРЕМЕННАЯ ОТСЛОЙКА ПЛАЦЕНТЫ КАК ИСХОД ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛАЦЕНТЫ: ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ

Багиянц В.А.^{1,2}, Милияева Н.М.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия

²ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Россия

³МАУ ГКБ №14, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

В последнее десятилетие улучшилось понимание причин развития таких осложнений беременности, как преэклампсия, задержка внутриутробного роста плода или преждевременная отслойка плаценты. В настоящее время известно, что большинство состояний этой группы имеют одинаковый патогенез, причиной которого является ишемия плаценты. В данной статье рассмотрены аспекты патогенеза ишемической болезни плаценты как предрасполагающую основу для последующей ее преждевременной отслойки, а также возможность использования клинических, лабораторных и инструментальных данных в качестве предикторов развития данного осложнения беременности.

Ключевые слова: отслойка плаценты, ишемическая болезнь плаценты, ангиогенез, акушерское кровотечение

Placental abruption as an outcome of ischemic placental disease: the possibility of predicting

Bagiyants V.A.^{1,2}, Milyaeva N.M.^{1,3}

¹Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

²Sverdlovsk Regional Children Clinical Hospital, Ekaterinburg, Russia

³City Clinical Hospital №14, Ekaterinburg, Russia

Summary

The last decade has seen an improved understanding of the cause of the development of pathologies such as preeclampsia, intrauterine growth restriction or placental abruption. Nowadays, we know that most conditions within this group share the same pathogenesis, the cause of which is placental ischemia. This article discusses aspects of the pathogenesis of placental ischemic disease as a predisposing basis for its subsequent placental abruption, as well as the possibility of using clinical, laboratory and instrumental data as predictors of the development of this pregnancy complication.

Key words: placental abruption, ischemic placental disease, angiogenesis, obstetric bleeding

Введение

Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты – это отделение плаценты от стенки матки во время беременности, в первом и втором периодах родов при расположении ее нижнего края на 70 мм и более выше внутреннего зева (то есть исключаются аномалии расположения плаценты: низкое, неполное, полное предлежания плаценты, которые обозначаются в МКБ кодом «Кровотечение при предлежании»). На современном этапе данное осложнение беременности и родов продолжает оставаться жизнеугрожающим состоянием как для наших пациенток, так и для новорожденных, являясь одной из причин преждевременных родов и внося весомый вклад в материнскую и неонатальную заболеваемость и смертность. Полная ПОНРП и связанная с ней массивная кровопотеря может способствовать формированию анемии тяжелой степени, шоку, респираторному дистресс-синдрому (РДС) взрослых, синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания, полиорганной недостаточности, острому повреждению почек, некрозу гипофиза (синдром Шихана), потере фертильности, росту частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. В последние

годы отмечена тенденция к увеличению частоты массивной кровопотери в результате ПОНРП, ее предлежанием и вращением. Исследования последних лет показали, что беременность и роды, осложненные ПОНРП, повышают частоту экстренного абдоминального оперативного родоразрешения, а атоническое кровотечение в результате ПОНРП, формирование маточно-плацентарной апоплексии выступают главными причинами случаев гистерэктомии

Целью реализации Глобальной стратегии охраны здоровья женщин Всемирной организации здравоохранения к 2030 г. является ликвидация предотвратимых случаев материнской смертности, 52% которых вызваны тремя управляемыми причинами – кровотечением, сепсисом и гипертензией [1]. По данным официальной статистики в России предотвратимыми причинами обусловлено около 40% случаев материнской смертности, из которых 1-е место занимают: кровотечения – 18,6% [2]. Среди которых до трети случаев – это отслойка плаценты. Учитывая вышесказанное напрашивается вывод, что проблема прогнозирования, профилактики и лечения преждевременной отслойки плаценты и ее последствий далека от решения и требует активного научного поиска в этом направлении.

Обсуждение

Изучение этиологии и патогенеза преждевременной отслойки плаценты является одним из наиболее актуальных вопросов современного акушерства в рамках разработки профилактических мероприятий предотвращения развития этого грозного осложнения. В зарубежной литературе все чаще можно встретить упоминание о так называемой ишемической болезни плаценты, что подразумевает под собой три нозологические единицы: преэклампсию, отслойку плаценты и задержку внутриутробного роста плода, поскольку они часто характеризуются общими моментами этиологии и патогенеза [1]. А именно: недостаточной маточно-плацентарной перфузией, хронической гипоксией и плацентарной ишемией, которые являются результатом недостаточной инвазии трофобласта и неполного ремоделирования плаценты, спиральных артерий во время плацентации [2].

При нормальной беременности спиральные артерии подвергаются конверсии путем проникновения цитотрофобласта и превращения клеток промежуточного трофобласта в направлении эндотелиальных клеток на треть в миометрий, что обеспечивает правильный транспорт в маточно-плацентарной системе, а главное - достаточный кровоток, который обеспечивает развивающийся плод адекватным доступом к питательным веществам и кислороду. Нарушение инвазии спиральных сосудов может иметь различную этиологию – иммунологическую, генетическую или средовую. Неправильная, поверхностная инвазия трофобласта нарушает формирование среды с низким сопротивлением и высоким объемным кровотоком [3]. Это приводит к ишемии в маточно-плацентарной системе, а затем к гипоксии [4]. Недостаточная перфузия приводит к ишемически-реперфузионным поражениям с сопутствующим образованием свободных радикалов [5]. Повышенный окислительный стресс является одним из первых индикаторов существующей патологии. Плацентарная ишемия и окислительный стресс запускают воспалительные процессы и высвобождение цитокинов [6]. Поддерживаемая хроническая гипоксия вызывает значительное усиление воспаления и запускает продукцию ангиогенных факторов, таких как VEGF или PlGF [7,8]. Их задачей является компенсация дефицита кровоснабжения путем индукции ангиогенеза, своеобразной пролиферации, и увеличения продукции NO, что, как ожидается, стабилизирует сосудистый эндотелий [9]. Потребность, которая постоянно растет во время беременности, делает этот процесс недостаточным. Это приводит к декомпенсации и нарушению баланса ангиогенеза и продукции антиангиогенных веществ [10,11]. Как показывают гистопатологические исследования, ангиогенные процессы во многом напоминают картину, характерную для ангиогенеза при остром отторжении трансплантата [12]. Антиангиогенные факторы начинают преобладать и их повышенная продукция наблюдается при всех состояниях, развивающихся на фоне плацентарной ишемии [13,14].

Таким образом, предполагается, что общий биологический путь, включающий неадекватную плацентацию на ранних сроках беременности, сопровождаемую неадекватной пролиферацией, и последующую плацентарную недостаточность, вовлечен в развитие ишемической болезни плаценты. Эти 3 состояния в совокупности существуют более чем половине всех родов по медицинским показаниям до 35 недель [2] в Соединенных Штатах и связаны с непропорционально высокими показателями перинатальной заболеваемости и смертности. Хотя причина этих трех состояний остается неясной, было предложено несколько патологических процессов, включая эндотелиальную дисфункцию, аномальную плацентацию, инфекцию и воспаление. Несмотря на наличие данных, подтверждающих различные патологические процессы при развитии отдельных состояний ишемической болезни плаценты, недавние данные свидетельствуют о том, что гомогенность профиля риска может наблюдаться, когда эти состояния возникают при недоношенной беременности.

Рассматривая преждевременную отслойку плаценты в качестве отдельной нозологической единицы как, в том числе, один из факторов преждевременных родов, коллеги из США провели обзор доступных на этот момент исследований факторов риска. Среди них: зрелый возраст матери, многоплодие, курение сигарет и употребление наркотиков во время беременности. Хроническая гипертензия и сахарный диабет, существовавший до беременности также являются факторами риска. Наиболее достоверный фактор риска отслойки плаценты в анамнезе — отслойка плаценты в анамнезе, при этом риск последующей отслойки оценивается в 3–12 раз выше. Предполагается, что отслойка плаценты в недоношенном сроке (<37 недель) и отслойка плаценты в доношенном сроке (<37 недель) имеют разные биологические механизмы [17]. По оценкам, преждевременная отслойка плаценты в недоношенном сроке беременности встречается в 9 раз чаще, чем отслойка в доношенном сроке, с частотой 2,8% среди преждевременных родов и 0,3% среди рожденных в срок в Соединенных Штатах. Факторы риска и состояния, связанные с отслойкой плаценты в сроке до 37 недель, отличаются от тех, которые связаны с отслойкой в доношенном сроке беременности, подразумевая, что эти два диагноза различаются. Курение во время беременности, артериальная гипертензия и внутривенное употребление наркотиков были связаны с отслойкой плаценты среди преждевременных родов, в то время как зрелый возраст матери был связан с отслойкой среди родов в сроке 37-41 недель. Из-за ограничений, связанных с включением в каждое из этих исследований только преждевременных или срочных родов, сравнение факторов риска между преждевременной и доношенной отслойкой плода провести невозможно.

При исследовании материнских исходов и исходов для новорожденных, некоторые авторы предприняли попытку прогнозирования тяжести отслойки плаценты в зависимости от предродовых показателей лабораторных тестов. Ретроспективно проанализированы клинические данные 126 пациенток с отслойкой плаценты. Тяжесть отслойки плаценты разделили на I–III степени. Были собраны предродовые лабораторные результаты всех пациенток и данные об исходах родов у матери и плода. Анализ материнских исходов показал, что объемы родовых, интранатальных и послеродовых кровотечений, частота маточно-плацентарной апоплексии, компрессионных швов на матку и эмболизации сосудов достоверно увеличивались с увеличением тяжести отслойки плаценты. Данные родов плода показали, что 1- и 5-минутная оценка по шкале Апгар значительно снижалась с увеличением тяжести отслойки плаценты [15]. Лабораторные данные перед родами предполагают, что количество лейкоцитов, гемоглобин, гематокрит, количество тромбоцитов, альбумин, аспаратаминотрансфераза (АСТ), креатинин, протромбиновое время, протромбиновая активность, протромбиновое время - коэффициент международной стандартизации (МНО), D-димер, фибриноген и продукты деградации фибрина значительно менялись с увеличением тяжести отслойки плаценты [15]. Дальнейший анализ с помощью корреляции Спирмена и Пирсона показал, что объем родового кровотечения, D-димер, продукты деградации фибрина и другие показатели коррелировали с тяжестью отслойки плаценты. Однозначный вывод на основании этого исследования: вред отслойки плаценты для женщин и новорожденных увеличивается с увеличением тяжести отслойки. Некоторые результаты лабораторных исследований могут быть предикторами степени тяжести отслойки плаценты.

Кроме этого, были найдены конкретные показатели анатомии тромбоцитов в общем анализе крови, которые стали достоверными маркерами преждевременной отслойки плаценты [16]. Тромбоциты играют важную роль в гемостазе, а средний объем тромбоцитов (MPV) считается важным маркером и определяющим фактором функции тромбоцитов. Более крупные тромбоциты с более высоким MPV более гемостатически реактивны и продуцируют большее количество протромботического фактора тромбокаана А2, что увеличивает склонность к тромбозу. Исследования, оценивающие индексы тромбоцитов, показали, что пик MPV составляет 9,77 при нормальной беременности и достигает более высоких уровней у женщин с гипертензией и преэклампсией. Повышенный оборот тромбоцитов и, следовательно, более незрелые тромбоциты в системе кровообращения матери могут объяснить, почему увеличивается MPV. Поэтому исследователи предположили, что уровни MPV повышены у женщин с преждевременной отслойкой плаценты. Были проанализированы данные от пациенток (n = 33) с отслойкой плаценты и здоровых лиц контрольной группы (n = 67), сопоставимых по возрасту и сроку беременности. Предоперационные и послеоперационные значения среднего объема тромбоцитов (MPV) и ширины распределения тромбоцитов (PDW) значительно различались между пациентами основной и контрольной групп. Когда пороговые значения для MPV были установлены на уровне 9,23; чувствительность 87,8% и специфичность 46,2%; положительная прогностическая ценность (PPV) на уровне 48,3%; и отрицательная прогностическая ценность (NPV) на уровне 90,0%. Когда пороговое значение для PDW было установлено на уровне 18,5, чувствительность составляла 100 %, а специфичность — 71,6 %, PPV — 40,7 % и NPV — 59,3 % для прогнозирования ПА [4]. Уровни MPV и PDW были значительно выше в группе с отслойкой плаценты. Эти результаты свидетельствуют о том, что клиническая оценка MPV и

PDW демонстрирует достаточную чувствительность и специфичность в качестве маркера РА, что указывает на необходимость дополнительных исследований в этой области клинических исследований.

Немного отойдя от анализ лабораторных данных в качестве предикторов преждевременной отслойки плаценты, можно обнаружить исследования, в качестве маркеров рассматриваются данные ультразвукового исследования плода и плацентометрии. Одно из исследований было направлено на изучение вопроса: может ли разница в гестационном возрасте по бипаритальному диаметру (БПР) и окружности живота (ОЖ) быть клинически полезным предиктором отслойки плаценты в интранатальном периоде, то есть во время беременности. В исследовании было продемонстрировано, что разница в гестационном возрасте более 2 недель по данным БПР и ОЖ может быть независимым предиктором отслойки плаценты после поправки на вмешивающиеся факторы, включая возраст матери, малый вес плода для гестационного срока (<10-й, 5-й и 3-й центиль) и преэклампсии. В частности, разница в гестационном возрасте >2 недель или >3 недель между БПР и ОЖ была связана с большей вероятностью отслойки плаценты примерно в 2,3 или 3,9 раза соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что большая разница в гестационном возрасте между БПР и ОЖ была связана с более высоким риском отслойки плаценты. Фактически, в данном анализе повышенный коэффициент риска отслойки плаценты, связанный с разницей в гестационном возрасте по данным БПР и ОЖ, был сравним с таковым для хорошо известных факторов риска, таких как преэклампсия (диапазон ОШ 2,18–2,25) или задержка внутриутробного роста (диапазон ОШ 4,81–4,66). Полученные данные также показали, что общая ROC-кривая для прогнозирования отслойки плаценты по средней разнице гестационного возраста по данным БПР и ОЖ составила 0,638, что является относительно низким показателем. Однако, учитывая низкую распространенность, но критические и непредсказуемые признаки отслойки плаценты, значение PPV в пределах от 5,5% до 11,1% при разнице более 2 недель можно считать значимым и клинически значимым.

Заключение.

Делая промежуточный вывод, можно отметить, что на современном этапе подробно изучен патогенез развития ишемической болезни плаценты, а также выявлены определенные анамнестические данные, данные лабораторных и инструментальных методов исследования (в частности - УЗИ), которые достоверно играют роль как в патогенезе ишемической болезни плаценты, так и, в частности, в возникновении преждевременной отслойки плаценты. Безусловно, требуется продолжение ведения исследований в этом направлении. Полученные результаты исследований могут быть использованы в построении системы прогнозирования преждевременной отслойки плаценты, а также объема кровопотери при ней, что позволит проводить соответствующие профилактические мероприятия по борьбе с кровотечениями.

Список литературы:

1. Parker S. E., Werler M. M. Epidemiology of ischemic placental disease: a focus on preterm gestations //Seminars in perinatology. – WB Saunders, 2014. – Т. 38. – №. 3. – С. 133-138.<https://doi.org/10.1053/j.semperi.2014.03.004>
2. Vintzileos A. M., Ananth C. V. First trimester prediction of ischemic placental disease //Seminars in Perinatology. – WB Saunders, 2014. – Т. 38. – №. 3. – С. 159-166.<https://doi.org/10.1053/j.semperi.2014.03.006>
3. Zhou Y. et al. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? //The Journal of clinical investigation. – 1997. – Т. 99. – №. 9. – С. 2152-2164.
4. Roberts D. J., Post M. D. The placenta in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction //Journal of clinical pathology. – 2008. – Т. 61. – №. 12. – С. 1254-1260.
5. Matsubara K. et al. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia //International journal of molecular sciences. – 2015. – Т. 16. – №. 3. – С. 4600-4614.
6. Molvarec A. et al. Serum leptin levels in relation to circulating cytokines, chemokines, adhesion molecules and angiogenic factors in normal pregnancy and preeclampsia //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2011. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-9.
7. Pratt A. et al. Placenta-derived angiogenic proteins and their contribution to the pathogenesis of preeclampsia //Angiogenesis. – 2015. – Т. 18. – №. 2. – С. 115-123.
8. Hoeben A. N. N. et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis //Pharmacological reviews. – 2004. – Т. 56. – №. 4. – С. 549-580.
9. Brkovic A., Sirois M. G. Vascular permeability induced by VEGF family members in vivo: role of endogenous PAF and NO synthesis //Journal of cellular biochemistry. – 2007. – Т. 100. – №. 3. – С. 727-737.

10. Levine R. J. et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia //New England Journal of Medicine. – 2006. – T. 355. – №. 10. – C. 992-1005.
11. Chaiworapongsa T. et al. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia //The journal of maternal-fetal & neonatal medicine. – 2005. – T. 17. – №. 1. – C. 3-18.
12. Wilczyński J. R. Immunological analogy between allograft rejection, recurrent abortion and pre-eclampsia—the same basic mechanism? //Human immunology. – 2006. – T. 67. – №. 7. – C. 492-511.
13. Cerdeira A. S., Karumanchi S. A. Angiogenic factors in preeclampsia and related disorders //Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2012. – T. 2. – №. 11. – C. a006585.
14. Chaiworapongsa T. et al. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia //American journal of obstetrics and gynecology. – 2013. – T. 208. – №. 4. – C. 287. e1-287. e15.
15. Su J. et al. The predictive value of pre-delivery laboratory test results for the severity of placental abruption and pregnancy outcome //Placenta. – 2021. – T. 103. – C. 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.10.006>
16. Hong J. Y. et al. Can a Difference in Gestational Age According to Biparietal Diameter and Abdominal Circumference Predict Intrapartum Placental Abruption? //Journal of Clinical Medicine. – 2021. – T. 10. – №. 11. – C. 2413. <https://doi.org/10.3390/jcm10112413>
17. Gonen N. et al. Placental Histopathology and Pregnancy Outcomes in “Early” vs. “Late” Placental Abruption //Reproductive Sciences. – 2021. – T. 28. – №. 2. – C. 351-360. <https://doi.org/10.3109/00016341003686081>

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

Исламиди Д.К., Бельх Н.С..

1 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» Министерства здравоохранения Российской Федерации

N.S.Belykh, D.K.Islamidi

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

"URAL STATE MEDICAL UNIVERSITY" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Резюме:

Введение. Морфофункциональное состояние эндометрия определяет наступление беременности и благополучное ее течение и завершение. Воспалительный процесс с нарушением структуры и функции эндометрия, который возникает при хроническом эндометрите, является одним из главных факторов нарушения фертильности и осложненного течения беременности. Несмотря на активный интерес научного сообщества нет единого взгляда на этиопатогенез заболевания, не выработаны четкие алгоритмы диагностики и терапевтической тактики.

Цель исследования: Основываясь на данных научной литературы изучить механизмы патологической клеточной пролиферации, возникающей при хроническом эндометрите, тем самым расширить представление о патогенезе хронического эндометрита.

Материалы и методы: был проведен поиск научной литературы. Анализ и систематизация данных проводился на основе научных публикаций в общей базе данных PubMed, Google Scholar, Scopus за период 2000-2022 гг. в результате которого для итогового научного обзора было отобрано 23 источников.

Результаты и обсуждение. На основании научного поиска литературы расширены знания о механизме клеточной пролиферации при эндометриальной дисфункции, обусловленной хроническим эндометритом, подтверждена целесообразность гистологической верификации диагноза, определены морфологические варианты изменения эндометрия.

Заключение: Понимание патологических процессов, происходящих в ткани эндометрия на фоне воспалительного процесса, расширят знания о патогенезе хронического эндометрита и позволят выбрать патогенетически обоснованный лечебно-диагностический подход у женщин с репродуктивными нарушениями, обусловленными хроническим эндометритом.

A modern view on the features of the proliferative phase of inflammation in chronic endometritis.

D.K.Islamidi, N.S.Belykh,

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

"URAL STATE MEDICAL UNIVERSITY" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Summary.

Introduction: The morphofunctional state of the endometrium determines the onset of pregnancy and its successful course and completion. The inflammatory process with a violation of the structure and function of the endometrium, which occurs in chronic endometritis, is one of the main factors in fertility disorders and complicated pregnancy. Despite the strong interest of the scientific community, there is no single view on the etiopathogenesis of the disease, and clear diagnostic algorithms and therapeutic tactics have not been developed.

Purpose of the study: To study the mechanisms of pathological cell proliferation that occurs in chronic endometritis, based on the data of scientific literature, thereby to expand the understanding of the pathogenesis of chronic endometritis.

Materials and methods: A search of scientific literature was conducted. The analysis and systematization of data was carried out on the basis of scientific publications in the common database PubMed, Google scholar, Scopus for the period 2000-2022 as a result of which the following 23 sources were selected for the final scientific review.

Results and discussion. Based on the scientific literature search, knowledge about the mechanism of cell proliferation in endometrial dysfunction caused by chronic endometritis has been expanded, the expediency of histological verification of the diagnosis has been confirmed, morphological variants of endometrial changes have been determined.

Conclusion: Understanding the pathological processes occurring in the endometrial tissue against the backdrop of the inflammatory process will expand knowledge about the pathogenesis of chronic endometritis and allow choosing a pathogenetically justified diagnostic and treatment approach in women with reproductive disorders caused by chronic endometritis.

Введение: на сегодняшний день влияние хронического эндометрита (ХЭ) на репродуктивное здоровье и качество жизни женщины не вызывает сомнения. Но несмотря на активный интерес к проблеме ХЭ многие вопросы не до конца изучены. В частности, в настоящее время отсутствуют фундаментальные представления о генезе заболевания. Широко обсуждаются вопросы диагностики, и особенно методы детекции инфекционного агента и его причастность к ХЭ. И наконец, отсутствует доказательная терапевтическая база с назначением антибактериальной терапии, которая зачастую необоснована.

Воспаление, как эволюционно сформированная защитная реакция, лежит в основе физиологических процессов. Однако при ХЭ воспаление приобретает патологический характер. В его развитии и поддержании играют роль не только инфекционные агенты, но и изменения иммунной реактивности организма, особенно выраженные локально. Длительное аномальное воспаление приводит к морфологическим изменениям в эндометрии, снижению параметров клеточного иммунитета, склонности к персистенции инфекционного агента, снижению чувствительности рецепторного аппарата к действию половых стероидных гормонов и тем самым обуславливает развитие эндометриальной дисфункции. В свою очередь эндометриальная дисфункция приводит к репродуктивным неудачам.

Материалы и методы: Нами был проведен поиск научной литературы. Анализ и систематизация данных проводился на основе научных публикаций в базе данных PubMed, Google Scholar, Scopus, eLibrary за период 2000-2022гг. По запросу «хронический эндометрит», «хронический эндометрит и бесплодие», «патологическая пролиферация и воспаление», «морфология эндометрия» на русскоязычной платформе за указанный период времени было найдено 16 источников. По запросу «chronic endometritis», «chronic endometritis and infertility» и «pathological proliferation, inflammation», «endometrial morphology» было найдено 7 статей. Поиск осуществлялся по заголовку и аннотации.

Для итогового научного обзора было отобрано 23 источника.

Результаты и обсуждение: В классическом понимании, хронический эндометрит - это клинко-морфологический синдром, для которого характерны клинические проявления разной степени выраженности и морфологические изменения эндометрия в результате длительного воздействия инфекционного фактора, приводящего к нарушению структуры и функции эндометрия [1-3]. Современная интерпретация ХЭ подразумевает собой состояние, связанное с нарушением мирного сосуществования между микроорганизмами и иммунной системой хозяина в эндометрии и проявляется как локальное воспаление эндометрия с повышенной плотностью и отеком стромальных клеток, диссоциацией созревания эпителиоцитов и фибробластов, а также наличием стромального плазмноклеточного инфильтрата, что несомненно говорит о более глубоком понимании процессов, происходящих в эндометрии.

Эндометрий является единственной морфофункциональной структурой в организме, которая в течение менструального цикла находится под воздействием сложных молекулярных и нейроиммуноэндокринных механизмов и претерпевает ряд циклических биохимических и морфологических структурных изменений [4]. И именно морфофункциональное состояние эндометрия, а вернее сказать адекватные изменения эндометрия на тканевом, клеточном, молекулярном уровне позволяют осуществлять основную его функцию — обеспечение успешной имплантации оплодотворенной яйцеклетки, успешное течение и завершение беременности. А недостаточная эндометриальная функция или эндометриальная дисфункция, обусловленная изменениями структуры самого эндометрия, наступающими чаще всего в результате воспаления, является одной из существенных причин снижения фертильности (бесплодия, невынашивания беременности, осложненного течения беременности и обуславливает неудачи в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО)).

Необходимо отметить, что воспаление лежит в основе как физиологических, так и патологических процессов. Оно является биологической защитной реакцией на нарушение гомеостаза тканей, вызванной различными патогенными агентами, приводящими к повреждению тканей и, впоследствии, нарушению функции органа или ткани [5]. Таким образом, нормально функционирующий эндометрий в условиях физиологического воспаления является необходимым элементом для успешного наступления и течения беременности [6].

Известно, что механизмы воспаления находятся под многофакторным контролем таких систем организма, как нервная, эндокринная, иммунная, а также под контролем местных тканевых гомеостатических процессов, которые включают

цитокины, обеспечивающие развитие специфического иммунного ответа. Таким образом, адекватный и сбалансированный острый воспалительный процесс, который включает ответ эндометрия и его иммунных клеточных компонентов будет ограничивать пролиферацию и играть важную роль в ликвидации микробной инвазии [7-8]. Однако чрезмерное или аномальное воспаление наблюдается при многих заболеваниях, в том числе и при хроническом эндометрите. При хроническом эндометрите, выявлены патологические изменения иммунореактивности организма, обусловленные снижением параметров клеточного иммунитета, склонности к персистенции инфекционного агента. Показано, что постоянная антигенная стимуляция из очага хронического воспаления в матке лежит в основе развития иммунной недостаточности [9-10].

В настоящее время определенный интерес представляет влияние персистенции микроорганизма при ХЭ на пролиферацию эндометрия, которая при наличии воспалительного процесса становится патологической. Малоизучено влияние инфектов как триггеров избыточной пролиферации слизистой или проапоптотической направленности процессов, особенно во взаимосвязи с изменениями микроархитектоники и рецепторной активности эндометрия [11-12]. В частности, доказано влияние гонококка, микоплазмы хоминис, хламидии на дисбаланс процессов апоптоза и пролиферации эндометрия. Так например, было доказано влияние хламидий на процессы апоптоза за счет двойного действия на белки, регулирующие апоптоз: активирует антиапоптотические белки Bcl1 и ингибирует проапоптотические BН3-only [13]. Зарубежные авторы приводят данные о роли условно-патогенной микрофлоры в развитии хронического эндометрита [14]. Результаты отечественных исследователей показывают, что длительная персистенция возбудителя оказывает стимулирующее влияние на иммунную систему, что в свою очередь приводит к активации аутоиммунного процесса в эндометрии, что вызывает вторичное повреждение эндометрия [15].

Таким образом как зарубежные, так и отечественные авторы схожи во мнении, что возбудители ХЭ способны вмешиваться в нормальное течение физиологических процессов в эндометрии и влиять на программируемую гибель клеток [12, 16, 17].

Однако понимание патогенеза ХЭ невозможно без понимания изменения в его морфологической структуре на микро- и макроскопических уровнях. Гистологическое исследование биоптатов слизистой матки выявило различные варианты изменения ткани при ХЭ [12]. Традиционно определяли несколько морфологических вариантов хронического эндометрита: атрофический, кистозный и гипертрофический. Атрофический – где отмечена атрофия желез, фиброз стромы, ее лимфоидная инфильтрация. В настоящее время ряд отечественных авторов рассматривают атрофию эндометрия как самостоятельный, впервые возникший процесс, обусловленный недостаточным регенераторно-пластическим потенциалом. Следующий морфологический вариант – кистозный. Данный морфологический вариант формируется при сдавливании фиброзной тканью протоков желез, сгущении слизи и формированием кист. Фиброз стромы как правило неоднородный, очаговый (перваскулярный) или диффузный. И третий – гиперпластический. Морфологически проявляется неоднородностью эндометрия - очаговой или диффузной гиперплазией эндометрия

Согласно современным данным отечественных исследователей предложено выделять следующие морфотипы по преобладающим макроскопическим признакам: атрофический, гиперпластический и смешанный [18]. При смешанном макротипе слизистая оболочка чаще неравномерной окраски и толщины, с очаговой или диффузной гиперемией, её полиповидными разрастаниями, чередованием неизменённых участков с истончёнными. Гиперпластический макротип характеризуется преобладанием гипертрофированной бледно-розовой слизистой оболочки, отёком стромы с гиперемией слизистой оболочки и микрополипами. В свою очередь при гипопластическом макротипе слизистая оболочка бледная, тусклого бесцветного цвета, истончённая, без выраженного сосудистого рисунка, с внутриматочными синехиями.

При хроническом эндометрите в эндометрии отмечены также изменения, которые касаются сосудистой стенки. Отмечен склероз и склеротические процессы вокруг спиральных артерий, что в свою очередь приводит к ишемии. Персистирующая инфекция повреждает эндотелиоциты, нарушаются коагуляционные свойства крови, запускаются процессы тромбообразования [18-20]. При ХЭ установлено что уменьшается количество сетей капилляров, изменяется конфигурация сосудов, что делает их более извитыми и повышает сопротивление кровотоку.

Изменения, происходящие при ХЭ, также касаются иммунных механизмов, происходящих локально. В частности, возрастает количество натуральных киллеров (NK-клеток), увеличивается продукция провоспалительных интерлейкинов.

Все вышеописанные изменения приводят в итоге к нарушению рецепции к половым стероидам, что проявляется к выраженному снижению рецепторов к прогестерону вне зависимости от фазы менструального цикла. В связи с этим

отечественными авторами были представлена классификация ХЭ, основанная на изменениях рецепторного аппарата и типа воспаления [21].

При наличии выраженной экспрессии эстрогенных рецепторов в железах и низкой к прогестерону формируется «гиперпластический тип» ХЭ. В случае повышенной экспрессии эстрогеновых рецепторов в железистой ткани, и сниженной экспрессии эстрогеновых рецепторов в интерстиции, при сохраненной рецепции к прогестерону формируется «гипопластический» тип.

Необходимо отметить, что зарубежные авторы считают, что у женщин с ХЭ значительно изменена экспрессия некоторых генов в эндометрии, что может объяснить нарушение рецептивности эндометрия к половым стероидам. В частности, DiPietro со авторами показал, что экспрессия IGFBP1, BCL2 и BAX повышалась, тогда как IL11, CCL4, IGF1 и CASP8 подавлялась. Авторы сделали вывод, что измененная экспрессия генов в эндометрии может объяснить нарушение рецептивности эндометрия и обнаружение гиперпластических поражений эндометрия у женщин, страдающих ХЭ [22].

Учитывая вышеописанные изменения происходящие в эндометрии на фоне ХЭ и приводящие к диссоциированному развитию эндометрия, отсутствие децидуоподобного метаморфоза и неадекватность ангиогенеза при наличии прочих маркеров ХЭ возможно интерпретировать как предикцию морфологической несостоятельности лютеиновой фазы цикла [23]. Следовательно, планировать последующую беременность у таких пациенток необходимо персонализировано, с коррекцией всех выявленных патогенетических изменений.

Заключение: Анализ полученных данных свидетельствуют о нарушенных процессах ремоделирования в воспаленной ткани эндометрия, где также претерпевают изменения процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Это все указывает на необходимость понимания механизмов формирования патологических процессов, происходящих в эндометрии на фоне воспаления для выбора индивидуальной, патогенетически обоснованной тактики ведения таких пациенток.

Список литературы

- 1) Клинический протокол диагностики и лечения. Хронические воспалительные болезни матки//Министерство здравоохранения Республики Казахстан.-2015.
- 2) А.Л.Уняня, Ю.М.Коссович/ Современные подходы к лечению больных с хроническим эндометритом//Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. -2016.-№3(3). -с.141-146.
- 3) В.Е.Радзинский, Ю.А.Петров, М.Л.Полина / Хронический эндометрит: современные аспекты// Кубанский научный медицинский вестник. -2017.-№ 24(5).-с. 69-74.
- 4) Г. Х. Толибова, Т.Г Траль , М.А. Клещёв , И. М. Кветной , Э.К. Айламазян / Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования //Журнал Акушерства и женских болезней.-Т. 16.-В.4.-2015
- 5) Дизрегуляционная патология: руководство для врачей и биологов / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.
- 6) Volodarsky-Perel A., Badeghiesh A., Shrem G., Steiner N., Tulandi T. Chronic endometritis in fertile and infertile women who underwent hysteroscopic polypectomy. J Minim Invasive Gynecol. 2019 22. doi: 10.1016/j.jmig.2019.08.017.
- 7) King AE, Critchley HO, Kelly RW. Innate immune defences in the human endometrium. Reprod Biol Endocrinol. 2003;1:116.
- 8) King AE, Fleming DC, Critchley HO, Kelly RW. Differential expression of the natural antimicrobials, beta-defensins 3 and 4, in human endometrium. J Reprod Immunol. 2003;59:1-16.
- 9) Cicinelli, E. Poor reliability of vaginal and endocervical cultures for evaluating microbiology of endometrial cavity in women with chronic endometritis / E. Cicinelli // Gynecol. Obstet. Invest. – 2009. – Vol. 68, № 2. – P. 108-115
- 10) Основные маркеры дизрегуляции иммунной, эндокринной систем и свободнорадикального окисления липидов у женщин с репродуктивными нарушениями, ассоциированными с хроническим воспалением эндометрия/канд.мед.наукИ.Н.Даунсевич/ Иркутск.-2014
- 11) Maybin J.A., Critchley H.O., Jabbour H.N. Inflammatory pathways in endometrial disorders. Mol Cell Endocrinol. 2011; 15(335): 42-51.

- 12) Радзинский В.Е., Петров Ю.А., Полина М.Л. Хронический эндометрит: современные аспекты. Кубанский научный медицинский вестник. 2017; 24(5): 69-74. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74
- 13) Петров Ю.А. Аспекты микробиологической и иммунной диагностики хронического эндометрита // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24811> (дата обращения: 10.10.2018).
- 14) Cicinelli E. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *FertilSteril*. 2008. vol. 3. no. 89. P. 21-25
- 15) Демидова Е. М. Роль эндометрия в генезе невынашивания беременности // Акушерство и гинекология. 2008. №6. С.11-13
- 16) Шуршалина А.В., Дубницкая Л.В. Иммуномодулирующая терапия в программе реабилитации пациенток с хроническим эндометритом // Российский Вестник акушергинеколога. 2008. № 1. С.36-38. 14.
- 17) Шуршалина А.В., Ежова Л.С., Силантьева Е.С. Патогенетические подходы к терапии хронического эндометрита // Акушерство и гинекология. 2009. №6. С.54-56
- 18) Патогенетические особенности макротипов хронического эндометрита/В.Е. Радзинский, Ю.А. Петров, Е.А. Калинина, Д.В. Широкова, М.Л. Полина// Казанский медицинский журнал.-2017.-том 98, №1
- 19) Сидорова И.С., Станоевич И.В., Кудрина Е.А., Фен И. Клинико-морфологические особенности сочетанных гиперпластических заболеваний матки // Журнал «Врач». 2010. №8. С.39-42. 18
- 20) Петров Ю.А. Роль иммунных нарушений в генезе хронического эндометрита // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2011. № 6. С.282-289,
- 21) Петров Ю.А., Радзинский В.Е., Калинина Е.А., Широкова Д.В., Полина М.Л. Возможности таргетной терапии хронического эндометрита с учетом патоморфотипа // Медицинский вестник Юга России. 2015. № 4. С.71-75
- 22) Di Pietro C, Cicinelli E, Guglielmino MR, Ragusa M, Farina M, Palumbo MA, Cianci A. Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*. 2013 May;69(5):509-17. doi: 10.1111/ajr.12076. Epub 2013 Jan 28. PMID: 23351011.
- 23) Овсянникова Т.В., Камилова Д.П., Феоктистов А.А. Оценка частоты, морфологической и микробиологической структуры хронического эндометрита у пациенток с трубно-перитонеальной формой бесплодия и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения. *Гинекология*. 2009; 3: 31-34.

ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПОДРОСТКОВ С ВТОРИЧНОЙ АМЕНОРЕЕЙ

Лаврентьева И.В.^{1,2}, Милыева Н.М.¹.

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

²ГАУЗ СО Детская клиническая больница № 9 г. Екатеринбург, Россия

Резюме.Доброкачественная дисплазия молочных желез (ДДМЖ) сопровождают большое число гинекологических заболеваний, в патогенезе которых есть гормональный дисбаланс. В подростковом возрасте этот дисбаланс может являться нормой, но как часто он сочетается с изменениями в молочных железах и насколько эти изменения значимы, исследовано не до конца.

Цель исследования.Проанализировать частоту и структуру ДДМЖ у подростков с вторичной аменореей различного генеза.

Материалы и методы. Было проведено анкетирование 110 девушек, наблюдающихся у детского гинеколога в ГАУЗ СО Детская клиническая больница № 9 с диагнозом вторичной аменореи. Группу I составили 60 девочек с гипогонадотропной аменореей (ГА) на фоне снижения массы тела, группу II - 50 подростков с синдромом поликистозных яичников (СПЯ). **Результаты.** Было установлено, что изменения эхографической картины молочных желез присутствуют у 12(20%) девочек первой группы и у 35(70%) девушек группы II ($p < 0,05$). Однако в первой группе чаще отмечались диффузные гипозоногенные структуры в ткани молочной железы 10(16,6%) против 6(12%), вторая характеризовалась кистозными образованиями - 12(24%) против 2(3,3%). В то же время, фиброаденомы в группе ГА не встречались совсем, а в группе СПЯ составили 17(34%) ($p < 0,05$). Клинические проявления в виде масталгии отметили всего 6 девушек в группе I 6:10%±3% (95%ДИ: 2,5-17,5%) против 19:38%±4,9% (95%ДИ: 26,1-49,9%) в группе II, что имело достоверную разницу ($p = 0,0003$). **Обсуждение.** Большая частота ДДМЖ в группе девушек с СПЯ, особенно у девушек с ожирением, объясняется длительной относительной гиперэстрогенией. Этот контингент пациенток может пополнить собой группу риска по развитию рака молочной железы. Девочки с ГА находятся в состоянии выраженной абсолютной гипозэстрогении, что более благоприятно в отношении развития доброкачественных новообразований молочных желез. **Выводы.** Необходимо уделять внимание состоянию молочных желез пациенток с аменореей, особенно в сочетании с ожирением и гиперандрогенией.

Ключевые слова: доброкачественная дисплазия молочных желез, подростки, аменорея

PROLIFERATIVE BREAST DISEASES IN ADOLESCENTS WITH SECONDARY AMENORRHEA

Lavrentyeva I.V.^{1,2}, Milyaeva N.M.¹.

¹ Ural state medical university Yekaterinburg, Russian Federation

² Children's Clinical Hospital No. 9, Yekaterinburg, Russia

Introduction. Benign mammary dysplasia (BMD) is accompanied by a large number of gynecological diseases, in the pathogenesis of which there is a hormonal imbalance. In adolescence, this imbalance may be the norm, but how often it is combined with changes in the mammary glands and how significant these changes are has not been fully investigated.

The aim of the study. To analyze the frequency and structure of BMD in adolescents with secondary amenorrhea of various genesis

Materials and methods. A survey was conducted of 110 girls observed by a pediatric gynecologist at the Children's Clinical Hospital No. 9 with a diagnosis of secondary amenorrhea. Group I consisted of 60 girls with hypogonadotropic amenorrhea (HA) on the background of weight loss, group II - 50 adolescents with polycystic ovary syndrome (PCOS).

Results. It was found that changes in the echographic picture of the mammary glands were in 12 (20%) girls of the first group and in 35 (70%) girls of group II ($p < 0.05$). However, diffuse hypoechoic structures in breast tissue were more often observed in the first group 10 (16.6%) versus 6 (12%), the second was characterized by cystic formations - 12(24%) versus 2(3.3%). At the same time, fibroadenomas did not occur at all in the HA group, and in the PCOS group they amounted to 17 (34%) ($p < 0.05$). Clinical manifestations in the form of mastalgia were noted by only 6 girls in group I 6:10%+3% (95% CI: 2.5-17.5%) against 19:38%+4,9% (95% CI: 26.1-49.9%) in group II, which had a significant difference ($p = 0.0003$).

Discussion. The high frequency of BMD in the group of girls with PCOS, especially in girls with obesity, is accompanied by prolonged relative hyperestrogenism. This contingent of patients can replenish the risk group for developing breast cancer. Girls with HA are in a state of pronounced absolute hypoestrogenism, which is more favorable in relation to the development of benign neoplasms of the mammary glands.

Conclusions. It is necessary to pay attention to the condition of the mammary glands of patients with amenorrhoea, especially in combination with obesity and hyperandrogenism.

Keywords: benign mammary dysplasia, adolescents, amenorrhoea

Введение. Менструальный цикл точнее всего отражает состояние репродуктивной системы девушки. Девочки подростки, в силу возрастных гормональных особенностей, особенно к ним предрасположены. Частота ДДМЖ в общей женской популяции составляет 50-55%. В то время как среди женщин с гинекологической патологией эта частота возрастает до 90% [1]. Причиной первичной аменореи чаще всего служат врожденные причины: хромосомные aberrации (50%), патология гипоталамуса (20%), аномалии развития матки, влагалища и яичников [2]. Вторичная аменорея чаще вызвана с дисфункцией различных уровней регуляции репродуктивной функции на фоне дефицита массы тела, гиперандрогении, гиперпролактинемии и других дисгормонов [3,4]. Основным механизмом развития нарушения ритма менструаций является ановуляция, возникающая в результате сбоя циклического и циркадного ритма выбросов гонадотропин-рилизинг-гормонов гипоталамусом. При этом могут наблюдаться как удлинение, так и укорочение цикла. Стойкая ановуляция может приводить к развитию другой гинекологической патологии и быть причиной бесплодия в дальнейшем [3]. Проллиферативные процессы в органах женской репродуктивной системы имеют единый механизм – относительную или абсолютную гиперэстрогению и молочная железа не является исключением [1]. Но, вторичная аменорея может протекать как на фоне абсолютной гипозестрогении, так и на фоне относительной гиперэстрогении, что должно отразиться на структуре и частоте патологии молочных желез. Это и легло в основу нашего исследования.

Цель работы – изучить структуру и частоту патологии молочных желез у девочек подростков с вторичной аменореей различного генеза.

Материалы и методы. Нами были обследованы девочки подростки, наблюдающиеся у детского гинеколога в ГАУЗ СО Детская клиническая больница № 9 г. Екатеринбурга по поводу вторичной аменореи. Группу I составили 60 пациенток с гипогонадотропной аменореей на фоне дефицита массы тела. Группу II состояла из 50 девочек с СПЯ. Были оценены антропометрические данные (рост, вес, индекс массы тела), характер менструального цикла до аменореи. Проведено ультразвуковое исследование молочных желез и органов малого таза вне менструального цикла. Оценивали степень выраженности масталгии по шкале ВАШ, где интенсивность 0-3 балла расценивалась как низкая, 4-6 как средняя и 7-10 баллов как выраженная. Гормоны крови: тестостерон (электрохемилюминесцентный иммуноанализ (ECLIA) референс 0,29 - 1,67 нмоль/л); пролактин (иммунохемилюминесцентный анализ референс 44,5 - 390,1 мкМЕ/мл).

Статистическая обработка проводилась в пакете статистических программ Microsoft Office 2013 с подсчетом среднего, стандартного отклонения, доверительного интервала, критерия Фишера для непараметрических данных ($p < 0,05$).

Результаты исследования. Средний возраст опрашиваемых девушек в обеих группах составил $16,3 \pm 1,6$ лет. Индекс массы тела в группе I составил $16,5 \pm 2,9$, а в группе II $31,8 \pm 2,6$ ($p = 0,019$). Средний возраст наступления менархе составил $12,6 \pm 1,8$, и $11,4 \pm 1,6$, в группах соответственно, что не имело достоверной разницы. Только у одной девушки из группы II менархе наступило ранее 10 лет, что расценивалось, как преждевременное половое развитие.

Достоверной разницы в возрасте возникновения вторичной аменореи выявлено не было, т.к. исходно нормальный менструальный цикл в интервале 24-32 дня отмечали в группе I $144,73,3 \pm 4,4\%$ (95% ДИ: 62,2-84,4%), а вторичная аменорея имела явную связь с быстрым снижением массы тела более, чем на 10% от исходной. При этом длительность вторичной аменореи в группе I составила $15 \pm 2,6$ месяцев, в группе II $9,4 \pm 1,4$ мес ($p = 0,04$). Интересно, что девочки с дефицитом массы тела, возникшим на фоне нарушения пищевого поведения, понимали связь между аменореей и потерей веса и не обращались к врачу, т.к. предугадывали настоятельные рекомендации по питанию. В тоже время, практически все девочки с СПЯ считали, что в основе аменореи лежит «гормональный сбой», а не увеличение аппетита и, соответственно, массы тела и раньше первой группы обращались к врачу.

В группе II нормальный менструальный цикл до аменореи имели $35:70\% \pm 4,6\%$ (95% ДИ: 57,2-82,8%) ($p = 0,7$). В этой группе аменорея развилась спустя 10-14 месяцев от менархе и была связана с набором массы тела в среднем на $11 \pm 6,8$ кг за год. Цикл длиннее 32 дней имели всего $4:6,6\% \pm 2,5\%$ (95% ДИ: 0,6-12,6%) девочки в группе I и $12:24\% \pm 2,3\%$ (95% ДИ:

12,1-35,9%) в группе II ($p=0,009$). Также отличалась в группах и продолжительность менструации. В группе I обильные и длительные менструации отметили 12:20%±1,6% (95% ДИ: 11,8-28,2%), в то время как аномальные маточные кровотечения отмечали 40:80%±4,0% (95%ДИ: 69-91%) пациенток второй группы ($p=0,8$).

Было установлено, что изменения эхографической картины молочных желез присутствуют у 12(20%) девочек первой группы и у 35 (70%) девушек группы II ($p<0,05$). Отмечались диффузные гипохогенные структуры в ткани молочной железы, что расценивалось как диффузная фиброно-кистозная мастопатия (ДФКМ), изолированные кисты и фиброаденома молочной железы (ФАМ). Структура выявленной патологии отражена на рисунке 1.

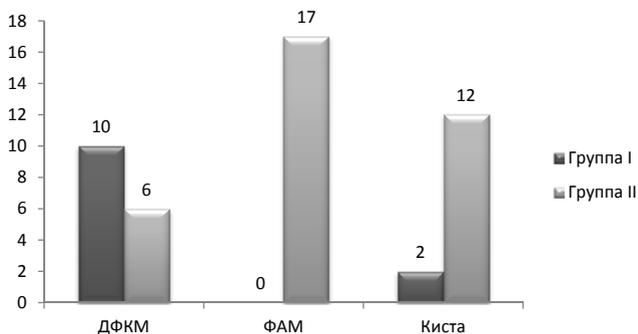


Рис. 1. Структура выявленной патологии молочной железы по УЗИ (абс.)

Размеры кист варьировали от 2 до 8 мм и не требовали инвазивной диагностики. Фиброаденомы молочной железы у 16 девочек выявлялись как одиночные гиперэхогенные образования размером от 12 до 34 мм, средний размер $19,3\pm 5,7$ мм, только у одной девочки фиброаденома была размером 72 мм, что явилось поводом для ее оперативного удаления.

Клинические проявления в виде масталгии отметили 6 девушек в группе I $6:10\%\pm 3\%$ (95%ДИ:2,5-17,5%) против $19:38\%\pm 4,9\%$ (95%ДИ: 26,1-49,9%) в группе II, что имело достоверную разницу ($p=0,0003$). Интенсивность боли отражена на рисунке 2.



Рис.2 Интенсивность масталгии по ВАШ (абс.)

Достоверных отличий в степени тяжести масталгии в группах выявлено не было.

При проведении ультразвукового исследования органов малого таза большинство девочек обеих групп имели отклонения от нормы - $50:83,3\%\pm 3,7\%$ (95%ДИ: 41-59%) и $44:88\%\pm 3,2\%$ (95%ДИ: 79-97%) в группах соответственно. Однако эти изменения значительно отличались в группах. Так в группе девочек с гипогонадотропной аменореей преобладали гипоплазия матки, уменьшение объема яичников до 4-5 см³ в связи с уменьшением размеров и количества

визуализируемых фолликулов. В группе с СПЯ объем яичников составлял 10-14 см³ с количеством фолликулов более 10 в поле зрения, что является одним из диагностических критериев этого заболевания.

При оценке гормонального статуса, ввиду аменореи определяемого вне фаз цикла у 12:20%±1,6% (95% ДИ: 11,8-28,2%) девушек группы I и 24:48%±5% (95% ДИ: 34,1-61,9%) в группе II (p=0,07) были выявлены отклонения в уровне пролактина выше 390,1 мкМЕ/мл, но менее 1000 мЕд/л. Средний уровень пролактина у пациенток обеих групп составил 627±34,7 мк МЕ/мл. При этом повышение в большинстве случаев не было стабильным, и уровень пролактина приходил в норму без специфического лечения, что отражает функциональную причину гиперпролактинемии. В тоже время, уровень тестостерона у всех пациенток группы I был в норме или ниже референса, а в группе с СПЯ средний уровень составил 2,23±1,1 нмоль/л, что превышало верхнюю границу референса (1,67 нмоль/л). Другие показатели гормонального статуса также имели отклонения, характерные для данного вида аменореи.

Обсуждение. Несмотря на то, что диагноз вторичной аменореи являлся общим для обеих групп девочек, различный патогенез гипогонадотропной аменореи на фоне снижения массы тела и синдрома поликистозных яичников имел отражение и в структуре патологии молочных желез. Потеря массы тела приводила к резкому торможению гонадотропной функции гипоталамуса и гипофиза, что, в свою очередь, резко снижало количество вырабатываемого яичниками эстрадиола. При СПЯ, нарушение соотношения гонадотропинов приводило к стимуляции клеток тека ткани яичников с повышением выработки тестостерона и относительной гипострогении. Таким образом, пролиферация ткани молочной железы в группе девочек с СПЯ встречалась значительно чаще. Очевидно, что подростки с СПЯ требуют более тщательного наблюдения за состоянием молочных желез.

Выводы.

1. У девочек с вторичной аменореей на фоне СПЯ выраженность пролиферативных процессов молочных желез связана с относительной гиперэстрогенией.
2. В структуре пролиферативных процессов молочных желез подростков с СПЯ преобладают фиброаденомы, а в группе гипогонадотропной аменореи – диффузные процессы нарушения соотношения железистой и соединительной тканей.
3. Девочки с СПЯ и ожирением, по сравнению с пациентками, страдающими гипогонадотропной аменореей на фоне дефицита массы тела, требуют более пристального наблюдения за состоянием молочных желез.

Список источников.

1. Молочные железы и гинекологические болезни./ Под ред. В.Е. Радзинского М: Редакция журнала StatusPraesens. 2017. 352с.
2. Fritz M.A., Speroff I., Clinical gynecologic endocrinology and infertility, 8 Aufl. Lippincott Williams & Wilkins. 2011.
3. Ящук А.Г., Даутова Л.А., Иванова К.Н. Формирование репродуктивной системы девочек-подростков в современных условиях/ Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2012., №6. -с. 30-44.
4. Борисенко М.Ю., Уварова Е.В. Современные представления об этиологии и патогенезе вторичной аменореи у девочек-подростков (аналитический обзор)/ Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2016. №4. - с. 27-47.
5. Купцова С.В., Науменко Е.И., Леснова Я.А. Нарушение менструальной функции девочек-подростков / Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2017. №3. - с. 36-37.

ДАННЫЕ ЦЕНТРА ОХРАНЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2021 ГОД.

Адамян Л.В.¹, Сибирская Е.В.^{1,2,3}, Торубаров С.Ф.³, Сысоева И.В.³, Папян Л.Г.³, Бдоян В.В.³, Бурханская Е.Д.³, Волкова Е.А.³, Аббасова Г.Н.³

¹ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

² Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И.Пирогова Минздрава России. Гинекологическое отделение.

³ ГБУЗ «Долгопрудненская центральная городская больница». Центр репродуктивного здоровья детей и подростков Московской области.

Резюме.

Охрана репродуктивного здоровья подрастающего поколения является одной из самых значимых проблем в связи с устойчивым ростом различных гинекологических заболеваний, протекающих в том числе бессимптомно, что оказывает существенное влияние на репродуктивный потенциал юного населения.

Цель исследования.

Выявить распространенность гинекологических патологий среди девочки-девушки Московской области.

Материал и методы.

Представлен анализ данных гинекологической заболеваемости девочек и девушек Московской области на основании данных Центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области за 2021 г.

Результаты.

Анализ распространенности гинекологической заболеваемости девочек и девушек Московской области свидетельствует о том, что среди всех заболеваний репродуктивной системы преобладают (n=1040): нарушения менструального цикла-46% (n=479), а также воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов-29% (n=298).

Улучшение специализированной гинекологической помощи является основным способом снижения численности заболеваний и сохранения репродуктивного здоровья юного населения.

Заключение. Основным способом сохранения и улучшения репродуктивного здоровья подростков является своевременное выявление различных патологий с дальнейшим оказанием качественной медицинской помощи, а также предупреждение различных заболеваний посредством просветительской деятельности среди подростков и их родителей.

Ключевые слова: репродуктивное здоровье подростков, девочки-подростки, распространённость гинекологической заболеваемости, специализированная помощь

Data from the Center for Reproductive Health of Adolescents of the Moscow region for 2021.

Adamyan L.V.¹Sibirskaya E.V.^{1,2,3}, Torubarov S.F.³Sysoeva I.V.³Papyan L.G.³Bdoyan V.V.³Burganskaya E.D.³Volkova E.A.³Abbasova G.N.³

¹Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia

²Russian Children's Clinical Hospital of the Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health of Russia. Gynecological department.

³GBUZ "Dolgoprudnenskaya Central city hospital". Center for Reproductive Health of Children and Adolescents of the Moscow region

Abstract

The protection of the reproductive health of the younger generation is one of the most significant problems due to the steady growth of various gynecological diseases, including those that are asymptomatic, which has a significant impact on the reproductive potential of the young population.

Purpose of the Study

To reveal the prevalence of gynecological pathologies among girls in the Moscow region.

Materials and Methods

An analysis of the data on gynecological morbidity of girls and young women in the Moscow Region is presented based on the data of the Reproductive Health Care Centre of Adolescents in the Moscow Region for 2021.

Results

An analysis of the prevalence of gynecological morbidity of girls and young women in the Moscow Region indicates that among all diseases of the reproductive system (n=1040), menstrual disorders-46% (n=479), as well as, inflammatory diseases of the external and internal genital organs-29% (n=298), predominate. Improving specialized gynecological care is the main way to reduce the number of diseases and preserve the reproductive health of the young population.

Conclusion

The main way to maintain and improve the reproductive health of adolescents is the timely detection of various pathologies with the further provision of quality medical care, as well as the prevention of various diseases through educational activities among adolescents and their parents.

Key words: reproductive health of adolescents, adolescent girls, prevalence of gynecological morbidity, specialized care

Репродуктивное здоровье, по определению ВОЗ - это состояние полного физического, умственного и социального благополучия по всем пунктам, относящимся к репродуктивной системе на всех стадиях жизни [1].

Подростковый возраст охватывает достаточно длительный период жизни (от 10 до 19 лет) и включает в себя элементы биологического роста и основных переходов социальной роли, которые изменились за последнее столетие [2,3]. В

условиях современной реалии биологическое взросление подростков происходит раньше формирования его личности и осознания ценности своего здоровья, в результате чего количество половых инфекций, венерических заболеваний и медицинских аборт у подростков с каждым годом возрастает и приводит к ухудшению показателей репродуктивного здоровья. В то же время актуальность проблемы охраны репродуктивного здоровья детей и подростков, профилактики и лечения гинекологических заболеваний у подрастающего поколения резко возросла, что связано с многочисленными факторами, оказывающими отрицательное влияние на репродуктивное здоровье девочек: образ жизни 50-55%, предрасположенность к наследственным заболеваниям 18-22%, экологическое состояние внешней среды 17-20%, дефекты медицинской помощи 8% [4]. По некоторым данным среди женщин, совершивших аборт, высока доля несовершеннолетних. Беременность и аборты в юном возрасте оказывают губительное влияние на ещё не сформировавшийся организм, влияя на физическое и психологическое состояние.

Для улучшения оказания специализированной гинекологической помощи девочкам подросткам на основании приказа Министерства Здравоохранения Московской области №269 от 23.03.2020 г «Об организации центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области» на территории Московской области на базе «Долгопрудненской ЦГБ» был создан «Центр охраны репродуктивного здоровья подростков МО». Основными задачами Центра являются своевременное оказание медицинской помощи девушкам с патологиями органов репродуктивной системы, реабилитация, психологическое сопровождение девочек на всех этапах лечения. В «Центр охраны репродуктивного здоровья подростков МО» госпитализируют все дети и подростки с различными гинекологическими патологиями и за 2021 г. по экстренным направлениям было госпитализировано 394 девочки и девушки Московской области.

По данным центра охраны репродуктивного здоровья подростков МО, распространенность гинекологических патологий при госпитализации в стационар за 2021 год составляет (n=517): Аномальные маточные кровотечения - 40% (n=207), апоплексия яичника - 26% (n=134), острые сальпингиты - 16% (n=83), вульвовагиниты - 8% (n=42), синехии половых органов - 7% (n=36), травмы наружных половых органов - 2% (n=10), внематочная беременность - 1% (n=5).

Период пубертата является определяющим в развитии репродуктивной функции женщины. Аномальные маточные кровотечения (АМК) являются частой гинекологической жалобой, на долю которой приходится одна треть амбулаторных посещений и около половины госпитализированных пациентов в стационар. У девочек-подростков наблюдается нестабильность функционирования высшей нервной деятельности, которая управляет процессом развития репродуктивной системы, а рецепторный аппарат матки и яичников находится в периоде развития. Также одной из частых причин аномальных маточных кровотечений в пубертате является патология функционирования эндокринной системы, проявляющееся нарушением баланса половых гормонов, в результате чего у девочек возникает кровотечение различной степени тяжести или кровяные выделения [5,6]. В связи с чем, главным аспектом в определении тактики лечения является правильная оценка степени тяжести кровотечения. В принципах терапии АМК пубертатного периода специалисты центра охраны репродуктивного здоровья подростков МО следуют клиническим рекомендациям по ведению АМК пубертатного периода, утверждённым министерством здравоохранения России. За период с января 2021 г. в стационаре центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области АМК экстренно были остановлены гормональным гемостазом в 68% случаев и гемостатической терапией в 32% случаев, к хирургическим методам остановки кровотечения не прибегнули ни разу.

Выявление причины острой абдоминальной боли в практике детского гинеколога часто является клинически сложной задачей, что связано с множеством вариантов развития данного синдрома, который может скрывать под собой патологии мочеполовой или желудочно-кишечной системы [7,8,9,10,11,12,13,14].

Апоплексия яичника – острая гинекологическая патология, часто требующая экстренного хирургического вмешательства в результате внезапно наступившего кровоизлияния в яичник, которое сопровождается нарушением целостности его ткани с возможным кровотечением в брюшную полость. Чаще всего наблюдается у девочек в овуляторную фазу менструального цикла, что связано с увеличением кровенаполнения сосудов в период овуляции и перед менструацией. Тактика лечения подбирается в зависимости от степени поражения, так при госпитализации подростков в стационар с

абдоминальной болью и незначительной внутрибрюшной кровопотерей без признаков нарастающего кровотечения и отсутствии признаков анемизации (при нормальных гемодинамических показателях) пациентам оказывается консервативная терапия под круглосуточным наблюдением, при возникновении показаний для оперативного вмешательства преимущественно используются методы лапароскопии, к методам лапаротомии могут прибегнуть исключительно при потере более 2 литров крови и нарушении показателей гемодинамики. Также за 2021 год в центр репродуктивного здоровья подростков московской области были госпитализированы девочки с абдоминальным болевым синдромом, у которых причиной его возникновения стала внематочная беременность, таких случаев было (1%) – 5 случаев за год. Диагностика внематочной беременности у подростков требует особого внимания, что связано с тем, что при сборе анамнеза подростки часто утаивают факт ведения половой жизни.

Воспалительные заболевания органов малого таза - это инфекция половых органов, которая оказывает существенное влияние на репродуктивное здоровье девочек и девушек, вплоть до бесплодия [15, 16,17,18,19,20,21,22,23]. В реестре гинекологических патологий первое место занимают именно воспалительные заболевания половых органов, начиная с периода младенчества они составляют более 50% всех заболеваний половых органов [24]. По данным центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области, среди детей и подростков чаще всего диагностируются: вульвовагиниты, сальпингиты и сальпингоофориты. Основной причиной воспалительных заболеваний являются инфекции[25,26,27,28,29,30]. С января 2021г в центре охраны репродуктивного здоровья подростков МО 7% (35) пациенток находились на стационарном лечении по поводу воспалительных заболеваний органов малого таза. Специалистами центра была успешно проведена терапия, учитывающая индивидуальные особенности, физиологическое состояние и степень выраженности воспалительного заболевания подростков.

Одной из проблем детской гинекологии, которая чаще всего выявляется на профилактическом осмотре является синехии, или сращение малых половых губ. Снижение количества эстрогенов - основная причина прогрессирования данной патологии [31,32,33,34,35,36].

Распространенность гинекологической заболеваемости подростков в амбулаторном звене составляет (n=523): вульвиты –33% (n=173), дисменорея – 31% (n=162), нарушения менструального цикла-21% (n=110), образования яичников - 9% (n=47), заболевания молочных желез - 6% (n=31).

Наиболее частой причиной обращений девочек и девушек в амбулаторном звене являются болезненные менструации (дисменорея). Дисменорея сопровождается симптомами, оказывающими влияние на психологическое и физическое состояние девушек, в связи с чем это не только медицинская, но и социальная проблема [37,38,39,40]. Первичная дисменорея появляется в подростковом возрасте через 6-12 месяцев после менархе, с началом овуляции и проявляется болезненными менструациями при отсутствии других патологий[41,42,43,44,45,46].

По мнению большинства специалистов, изменение или отсутствие менструального цикла оказывает существенное влияние на психологическое и репродуктивное здоровье молодых пациенток. Одним из распространенных вариантов расстройств менструального цикла у подростков являются скудные, короткие и редкие менструации -олигоменорея. Основным методом профилактики нарушений менструального цикла среди подростков является своевременно пройденная диагностика в рамках диспансеризации, что приводит к снижению численности осложнений и оказывает положительное влияние на репродуктивную возможность девушек в будущем. В случае отсутствия менструации после 15 лет при анатомически правильно развитых вторичных половых органов и пропадании менструаций у ранее менструирующих пациенток, выявляется соответственно первичная и вторичная аменорея [47,48,49,50,51]. Являясь мультифакторным нарушением, аменорея скрывает под собой различные гинекологические и эндокринные заболевания, что требует комплексной оценки состояния пациента.

Одной из активно прогрессирующих в гинекологии патологий являются образования яичников[52,53]. По данным центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области в структуре гинекологической заболеваемости подростков и детей удельный вес образований яичников составляет 28%. Особенностью центра охраны репродуктивного

здоровья подростков Московской области является возможность круглосуточного исследования патологий органов малого таза и молочных желёз. На базе центра ежедневно проводятся Ультразвуковые исследования органов малого таза в амбулаторном и стационарном звене, выполняемых, в том числе на этапе поступления пациентов в центр. За период 2020-2021 гг. в условиях стационара было выполнено 1120 УЗИ малого таза, в амбулаторных условиях - 478 УЗИ малого таза. Совпадение данных, полученных при ультразвуковом исследовании гениталий девочек и девушек, имеющих опухоли и опухолевидные образования яичников, с заключительным диагнозом составляет около 95%, что говорит о высокой эффективности методов ультразвукового скрининга в гинекологии детей и подростков. В 2021 году от общего числа госпитализированных девочек с образованиями яичников гигантские образования составили 6%, в результате было проведено 2 лапаротомии, 29 экстренных лапароскопических операций, цистэктомии или аднексэктомии по поводу перекрутов придатков матки и 17 плановых лапароскопических вмешательств. Среди патологий образований яичников по данным центра охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области ведущее место занимают: серозные цистаденомы-41%, зрелые тератомы-20%, параовариальные кисты-10,5%.

«Центр охраны репродуктивного здоровья подростков МО» так же занимается диагностикой и лечением таких патологий молочных желёз, как фиброаденомы, кистозные образования, фиброно-кистозная мастопатия и др. Заболевания молочных желёз имеют множественный характер и рецидивирующее течение, отсутствие наблюдения за данными пороками приводит к развитию патологических процессов в молочной железе, что существенно снижает репродуктивный потенциал девочек.

Анализ распространенности гинекологической заболеваемости девочек и девушек Московской области свидетельствует о том, что среди всех заболеваний репродуктивной системы преобладают воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов, а также нарушения менструального цикла, что согласуется с данными распространенности гинекологической заболеваемости у девочек и девушек на всей территории Российской Федерации [54].

Учитывая полученные нами данные, можно говорить об общности тенденций распространения гинекологической заболеваемости у девочек и девушек в Московской области и на всей территории РФ. Следуя приказу Министерства здравоохранения РФ No1130н от 20.10.2020 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)», можно добиться снижения гинекологической заболеваемости среди девочек и девушек Московской области путем совершенствования специализированной гинекологической помощи.

Для снижения показателей гинекологической патологии на всей территории Московской области следует проводить мероприятия по половому воспитанию и просвещению школьниц и их родителей, а также педагогов образовательных учреждений. Подготавливать специалистов в области детской и подростковой гинекологии, организовывать кабинеты детской гинекологии. Проводить консолидацию работы врачей всех специальностей и продолжать программу диспансеризации.

Список литературы.

- 1.WHO. Working defeneten: World Health Organization, 2002
- 2.WHO. Adolescent Friendly Health Services–an agenda for change. Geneva:World Health Organization, 2002
- 3.Sawyer SM, Azzopardi PS, Wickremarathne D, Patton GC. The age of adolescence. *Lancet Child Adolesc Health.* 2018 Mar;2(3):223-228. doi: 10.1016/S2352-4642(18)30022-1. Epub 2018 Jan 30. PMID: 30169257.
- 4.Евстифеева, Е. А. Риск-факторы, влияющие на репродуктивное здоровье молодежи / Е. А. Евстифеева, С. И. Филиппченкова, А. В. Макаров // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Педагогикаи психология. – 2019. – No 2(47). – С. 66-72.
- 5.Evstifeeva, E. A. Risk Factors Affecting the Reproductive Health of Young People / E. A. Evstifeeva, S. I. Filippchenkova,

А.

В.

Makarov // VestnikTverskogogosudarstvennogouniversiteta. Series: Pedagogy and Psychology. - 2019. - No 2(47). - С. 66-72. (In Russ.).

5. АдамянЛ.В., СибирскаяЕ.В., КолтуноваИ.Е., ЛогиноваО.Н., ТарбаяН.О., ОсиповаГ.Т., ПахомоваП.И. Аномальныматочныхкровотеченияпубертатногопериода: диагностикаитактикалечения

(обзорлитературы).Проблемырепродукции. 2016;22(6):89-97.Adamyan

LV., Sibirskaia EV., Koltunova IE., Loginova ON., Tarbaia NO., Osipova GT., Pakhomova PI. Abnormal uterine bleeding in puberty: diagnosis and treatment. Problemyreproduksii. 2016;22(6):89-97. (InRuss.). doi: [10.17116/repro201622689-97](https://doi.org/10.17116/repro201622689-97)

6. Эtiология, патогенез и клиника маточных кровотечений пубертатного периода (обзор литературы) / Л. В. Адамян, Е. А. Богданова, Е. В. Сибирская [и др.]// Problemyreproduksii. – 2011. – Т. 17. – № 5. – С. 33-37. – EDNПYRJCH.

Etiology, pathogenesis, and clinic of uterine bleeding during puberty (review of the literature)/ LV Adamyan, EA Bogdanova, EVSibirskaia [and others] // Problemyreproduksii. - 2011. - Т. 17. - № 5. - С. 33-37. - EDN PYRJCH.

7.Абдоминальный болевой синдром у девочки 16 лет, обусловленный внематочной беременностью. Клиническое наблюдение //Детская хирургия. 2017. №3

AdamyanLV., KoltunovIE., SibirskayaEV., SharkovSM., KorotkovaSA., MoksyakovaEG., TarbayaNutsaOmarovnaAbdominalpainsyndromeina 16-year-oldgirlduetoectopicpregnancy. Clinical observation // Detskayakhirurgiya. 2017. №3

8.Iyer R, Nallasamy K. Child with Abdominal Pain. Indian J Pediatr. 2018 Jan;85(1):71-76. doi: 10.1007/s12098-017-2447-5. Epub 2017 Sep 15. PMID: 28913814.

9.Lawrence AE, Ervin E, Sebastião YV, Hewitt G, Minneci PC, Deans KJ. Emergency Department Evaluation of Abdominal Pain in Female Adolescents. J PediatrAdolesc Gynecol. 2021 Oct;34(5):649-655. doi: 10.1016/j.jpjg.2021.05.004. Epub 2021 May 21. PMID: 34023523.

10.Di Serafino M, Iacobellis F, Schillirò ML, Verde F, Grimaldi D, Dell'AversanoOrabona G, Caruso M, Sabatino V, Rinaldo C, Cantisani V, Vallone G, Romano L. Pelvic Pain in Reproductive Age: US Findings. Diagnostics (Basel). 2022 Apr 9;12(4):939. doi: 10.3390/diagnostics12040939. PMID: 35453987; PMCID: PMC9026765.

11.Dewey K, Wittrock C. Acute Pelvic Pain. Emerg Med Clin North Am. 2019 May;37(2):207-218. doi: 10.1016/j.emc.2019.01.012. PMID: 30940367

12.Savaris RF. Up-to-date data on Pelvic Inflammatory Disease. Rev Soc Bras Med Trop. 2021 Nov 12;54:e0419. doi: 10.1590/0037-8682-0419-2021. PMID: 34787264; PMCID: PMC8582945.

13.Siegenthaler F, Krause E, Mueller MD. Diagnostik und Therapie der Adnexitis (Pelvic Inflammatory Disease) [Management of Pelvic Inflammatory Disease]. Ther Umsch. 2020;77(4):164-170. German. doi: 10.1024/0040-5930/a001171. PMID: 32772692.

14.Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Тарбая Н.О. Проблема эндометриоза у девочек-подростков (обзор литературы). Проблемырепродукции. 2016;22(3):71-76.

Adamyan LV, Sibirskaia EV, Tarbaia NO. The problem of endometriosis in adolescent girls (a review). Problemyreproduksii. 2016;22(3):71-76.

(In Russ.).

[doi:10.17116/repro201622371-76](https://doi.org/10.17116/repro201622371-76)

15. Ravel J, Moreno I, Simón C. Bacterial vaginosis and its association withinfertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. Am J Obstet Gynecol.2021 Mar;224(3):251-257. doi: 10.1016/j.ajog.2020.10.019. Epub 2020 Oct 19. PMID: 33091407.

16.den Heijer CDJ, Hoebe CJPA, Driessen JHM, Wolffs P, van den Broek IVF, Hoenderboom BM, Williams R, de Vries F, Dukers-Muijers NHTM. Chlamydia trachomatis and the Risk of Pelvic Inflammatory Disease, Ectopic Pregnancy, and Female Infertility: A Retrospective Cohort Study Among Primary Care Patients. Clin Infect Dis. 2019 Oct 15;69(9):1517-1525. doi: 10.1093/cid/ciz429. Erratum in: Clin Infect Dis. 2020 May 23;70(11):2459. PMID: 31504315; PMCID: PMC6792126.

17.Neo DT, Samoff E, Cope A. Pelvic Inflammatory Disease Trends Among Emergency Department Visits in North Carolina, 2008 to 2017. Sex Transm Dis. 2022 Jan 1;49(1):43-49. doi: 10.1097/OLQ.0000000000001514. PMID: 34264903; PMCID: PMC8665106.

- 18.Kreisel K, Flagg EW, Torrone E. Trends in pelvic inflammatory disease emergency department visits, United States, 2006-2013. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Jan;218(1):117.e1-117.e10. doi: 10.1016/j.ajog.2017.10.010. Epub 2017 Oct 16. PMID: 29045851.
- 19.Brunham RC, Gottlieb SL, Paavonen J. Pelvic inflammatory disease. *N Engl J Med.* 2015 May 21;372(21):2039-48. doi: 10.1056/NEJMr1411426. PMID: 25992748.
- 20.Duarte R, Fuhrich D, Ross JD. A review of antibiotic therapy for pelvic inflammatory disease. *Int J Antimicrob Agents.* 2015 Sep;46(3):272-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.05.004. Epub 2015 Jun 17. PMID: 26126798.
- 21.Trent M. Status of adolescent pelvic inflammatory disease management in the United States. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2013 Oct;25(5):350-6. doi: 10.1097/GCO.0b013e328364ea79. PMID: 24018871; PMCID: PMC5502477.
- 22.Bittleston H, Coombe J, Temple-Smith M, Bateson D, Hunady J, Sancı L, Hocking JS, Goller JL. Diagnosis of pelvic inflammatory disease and barriers to conducting pelvic examinations in Australian general practice: findings from an online survey. *Sex Health.* 2021 May;18(2):180-186. doi: 10.1071/SH20176. PMID: 33832551.
- 23.Liu L, Yang G, Ren J, Zhang L, Wu T, Zheng Q. Analysis of Infertility Factors Caused by Gynecological Chronic Pelvic Inflammation Disease Based on Multivariate Regression Analysis of Logistic. *Scanning.* 2022 Jun 16;2022:7531190. doi: 10.1155/2022/7531190. PMID: 35822160; PMCID: PMC9225857.
- 24.АдамянЛ.В., СибирскаяЕ.В., КолтуновИ.Е., Поддубный И.В.,Шостенко Л.В., Шостенко А.В., Шмелькова Е.А., Смоленцева В.В.Вульвовагинит у девочек в препубертатном и пубертатном периодах развития (обзор литературы). *Проблемы репродукции.* 2018;24(3):49-54. Adamyan LV, Sibirskaja EV, Koltunov IE, Poddubnyĭ IV, Shostenko LV, Shostenko AV, Shmelkova EA, Smolenceva VV. Vulvovaginitis in pre-pubertal and adolescent girls (a review). *Problemy reproduksii.* 2018;24(3):49-54. (In Russ.).
- 25.Curry A, Williams T, Penny ML. Pelvic Inflammatory Disease: Diagnosis,Management, and Prevention. *Am Fam Physician.* 2019 Sep 15;100(6):357-364. PMID: 31524362.
- 26.Witkin SS, Minis E, Athanasiou A, Leizer J, Linhares IM. Chlamydia trachomatis: the Persistent Pathogen. *Clin Vaccine Immunol.* 2017 Oct 5;24(10):e00203-17. doi: 10.1128/CVI.00203-17. PMID: 28835360; PMCID: PMC5629669.
- 27.Freeman MC, Lazzara A, Lennon T, McAteer J, Pease M, Sefcik R, Radovic-Stakic A, Milstone AM, Nowalk A, Trent M. Gonococcal Infection and Ventriculoperitoneal Shunts. *Sex Transm Dis.* 2022 Jul 4. doi: 10.1097/OLQ.0000000000001671. Epub ahead of print. PMID: 35797550.
- 28.Wiesenfeld HC, Meyn LA, Darville T, Macio IS, Hillier SL. A Randomized Controlled Trial of Ceftriaxone and Doxycycline, With or Without Metronidazole, for the Treatment of Acute Pelvic Inflammatory Disease. *Clin Infect Dis.* 2021 Apr 8;72(7):1181-1189. doi: 10.1093/cid/ciaa101. PMID: 32052831; PMCID: PMC8028096.
- 29.Mitchell CM, Anyalechi GE, Cohen CR, Haggerty CL, Manhart LE, Hillier SL. Etiology and Diagnosis of Pelvic Inflammatory Disease: Looking Beyond Gonorrhea and Chlamydia. *J Infect Dis.* 2021 Aug 16;224(12 Suppl 2):S29-S35. doi: 10.1093/infdis/jiab067. PMID: 34396407; PMCID: PMC8365120.
- 30.Ault KA, Faro S. Pelvic inflammatory disease. Current diagnostic criteria and treatment guidelines. *Postgrad Med.* 1993 Feb;93(2):85-6, 89-91. doi: 10.1080/00325481.1993.11701600. PMID: 8433960.
- 31.Gonzalez D, Anand S, Mendez MD. Labial Adhesions. 2022 Mar 15. In:StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29262197.
- 32.Bacon JL, Romano ME, Quint EH. Clinical Recommendation: Labial Adhesions. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2015 Oct;28(5):405-9. doi: 10.1016/j.jpjg.2015.04.010. Epub 2015 Apr 24. PMID: 26162697.
- 33.Rubinstein A, Rahman G, Rizzo P, Ocampo D. Labial adhesions: Experience in a children's hospital. *Arch Argent Pediatr.* 2018 Feb 1;116(1):65-68. English, Spanish. doi: 10.5546/aap.2018.eng.65. PMID: 29333822.
- 34.Barbosa Ardila SD, Tristanchó Baró AI, Suescún Vargas JM. Sinequia vulvar: revisión de literatura [Labial adhesions: review of the literature]. *Arch Argent Pediatr.* 2017 Dec 1;115(6):597-601. Spanish. doi: 10.5546/aap.2017.597. PMID: 29087136.
- 35.Samuels E, Ocheke AN, Samuels NE. Labial adhesion in children at the Jos University Teaching Hospital. *Afr J Paediatr Surg.* 2016 Jan-Mar;13(1):6-8. doi: 10.4103/0189-6725.181622. PMID: 27251516; PMCID: PMC4955458.
- 36.Padilla Fernández B, Virseda Rodríguez AJ, Lorenzo Gómez MF, García García MÁ, Herrero Polo M, Díaz Alférez FJ. Síndromemiccional de originginecológico: La importancia de una Buena exploraciónfísica [Voiding syndrome of gynaecological origin: the importance of good physical examination]. *Arch Esp Urol.* 2015 May;68(4):443-7. Spanish. PMID: 26033766..

37. Геворгян А.П., Сибирская Е.В., Адамян Л.В., Арслanian К.Н. Первичная дисменорея девочек подросткового как предиктор развития недифференцированной дисплазии соединительной ткани. *Проблемы репродукции.* 2017;23(3):77-85.
- Gevorgyan AP, Sibirskaja EV, Adamyan LV, Arslanian KN. Primary dysmenorrhea in adolescent girls as a predictor of the development of undifferentiated connective tissue dysplasia. *Problemy reproduktsii.* 2017;23(3):77-85. (In Russ.). doi:10.17116/repro201723377-8
38. De Sanctis V, Soliman A, Bernasconi S, Bianchin L, Bona G, Bozzola M, Buzi F, De Sanctis C, Tonini G, Rigon F, Perissinotto E. Primary Dysmenorrhea in Adolescents: Prevalence, Impact and Recent Knowledge. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2015 Dec;13(2):512-20. PMID: 26841639.
39. Suvitie P. Dysmenorrhea in teenagers. *Duodecim.* 2017;133(3):285-91. PMID: 29205027.
40. Nooh AM, Abdul-Hady A, El-Attar N. Nature and Prevalence of Menstrual Disorders among Teenage Female Students at Zagazig University, Zagazig, Egypt. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2016 Apr;29(2):137-42. doi: 10.1016/j.jpag.2015.08.008. Epub 2015 Sep 3. PMID: 26343844.
41. ACOG Committee Opinion No. 760: Dysmenorrhea and Endometriosis in the Adolescent. *Obstet Gynecol.* 2018 Dec;132(6):e249-e258. doi:10.1097/AOG.0000000000002978. PMID: 30461694.
42. Nagy H, Khan MAB. Dysmenorrhea. 2022 Jul 18. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32809669.
43. Itani R, Soubra L, Karout S, Rahme D, Karout L, Khojah HMJ. Primary Dysmenorrhea: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment Updates. *Korean J Fam Med.* 2022 Mar;43(2):101-108. doi: 10.4082/kjfm.21.0103. Epub 2022 Mar 17. PMID: 35320895; PMCID: PMC8943241.
44. Durand H, Monahan K, McGuire BE. Prevalence and Impact of Dysmenorrhea Among University Students in Ireland. *Pain Med.* 2021 Dec 11;22(12):2835-2845. doi: 10.1093/pm/pnab122. PMID: 33822197; PMCID: PMC8666000.
45. Ferries-Rowe E, Corey E, Archer JS. Primary Dysmenorrhea: Diagnosis and Therapy. *Obstet Gynecol.* 2020 Nov;136(5):1047-1058. doi: 10.1097/AOG.0000000000004096. PMID: 33030880.
46. Kho KA, Shields JK. Diagnosis and Management of Primary Dysmenorrhea. *JAMA.* 2020 Jan 21;323(3):268-269. doi: 10.1001/jama.2019.16921. PMID: 31855238.
47. Соснова Е.А. Аменорея // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. 2016. №2.
Sosnova EA Amenorrhea // Archives of Obstetrics and Gynecology. V. F. Snegirev. 2016. №2. (In Russ.).
48. Klein DA, Paradise SL, Reeder RM. Amenorrhea: A Systematic Approach to Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2019 Jul 1;100(1):39-48. PMID: 31259490.
49. Gasner A, Rehman A. Primary Amenorrhea. 2022 Jun 5. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32119356.
50. Kerns J, Itriyeva K, Fisher M. Etiology and management of amenorrhea in adolescent and young adult women. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2022 May;52(5):101184. doi: 10.1016/j.cprpeds.2022.101184. Epub 2022 May 4. PMID: 35525789.
51. Pitts S, DiVasta AD, Gordon CM. Evaluation and Management of Amenorrhea. *JAMA.* 2021 Nov 16;326(19):1962-1963. doi: 10.1001/jama.2021.13312. PMID: 34783850.
52. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Богданова Е.А., Колтунов И.Е., Смаль Т.А., Шуткова А.Ю. Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников у детей и подростков (обзор литературы). *Проблемы репродукции.* 2016;22(2):73-77.
Adamyan LV, Sibirskaja EV, Bogdanova EA, Koltunov IE, Smal' TA, Shutkova AYU. Ovarian benign tumors and tumor-like formations of girls and young women (a review). *Problemy reproduktsii.* 2016;22(2):73-77. (In Russ.). doi:10.17116/repro201622273-77
53. Сибирская Елена Викторовна, Шарков С.М., Шостенко А.В., Медведева А.О. Злокачественные новообразования яичников у детей и подростков // *Детская хирургия.* 2018. №5. Sibirskaya Elena Viktorovna, Sharkov SM., Shostenko AV., Medvedeva AO. Malignant ovarian neoplasms in children and adolescents // *Detskayakirurgiya.* 2018. №5.

54. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Короткова С.А. Диагностика и лечение опухолей и опухолевидных образований придатков матки у девочек Репродуктивное здоровье детей и подростков, no. 2 (67), 2016, pp. 18-19. Adamyan LV., Sibirskaya EV., KorotkovaSA.. Diagnosis and treatment of tumors and tumor-like masses of the uterine appendages in girls Reproktivnoezdorov'edeteiiipodrostkov, no. 2 (67), 2016, pp. 18-19.

55. Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб./Росстат. - М., 2021. - 171 с. HealthCareinRussia. 2021: Statistical collection /Rosstat. - M., 2021. - 171 c.

АНОМАЛЬНОЕ МАТОЧНОЕ КРОВОТЕЧЕНИЕ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА В ЭКСТРЕННОЙ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЕ

Адамян Л.В.¹ Сибирская Е.В.^{1,2,3}, Торубаров С.Ф.^{1,3}, Сысоева И.В.³, Папян Л.Г.³, Бдоян В.В.³, Бурханская Е.Д.³,
Волкова Е.А.³, Кириллова Ю.А.²

¹ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России

² ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

³ ГБУЗ «Долгопрудненская центральная городская больница». Центр репродуктивного здоровья детей и подростков
Московской области, Долгопрудный, Россия

РЕЗЮМЕ

Аномальное маточное кровотечение – это кровяные выделения из половых путей по длительности более 8 дней, объему кровопотери более 80мл и/или частоте менее 24 дней. АМК оказывает негативное влияние на физическое, социальное, эмоциональное и/или материальное благополучие. Причины бывают органические или неорганические заболевания. Аномальное кровотечение может быть симптомом многих заболеваний, в том числе опухолей. При несвоевременной диагностике они могут прогрессировать и вызывать еще большие осложнения. К сожалению, аномальное маточное кровотечение у девочек, особенно первые два года после первой менструации многие врачи оценивают как не установившейся менструация, что приводит к многим осложнениям. Раннее выявление, квалифицированная медицинская помощь помогут сохранить репродуктивное здоровье пациенток с данной патологией.

В данной статье рассмотрим методы лечения при аномальном маточном кровотечении пубертатного периода в экстренной гинекологической службе.

Ключевые слова: аномальное маточное кровотечение пубертатного периода, гинекология детей и подростков, гемостатическая терапия, репродуктивное здоровье.

Abnormal uterine bleeding of puberty in the emergency gynecological service

Literature review

Adamyan L.V.¹, Sibirskaya E.V.^{1,2,3}, Torubarov S.F.^{1,3}, Sysoeva I.V.³, Papyan L.G.³, Bdoyan V.V.³, Burganskaya E.D.³,
Volkova E.A.³, Kirillova Y.A.²

¹ Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia

² Russian Children's Clinical Hospital, 119571, Moscow, Russia;

³ GBUZ "Dolgoprudnenskaya Central city hospital". Center for Reproductive Health of Children and Adolescents of the
Moscow region

SUMMARY

Abnormal uterine bleeding is excessive blood discharge from the genital tract for a duration of more than 8 days, a volume of blood loss of more than 80 ml and/or a frequency of less than 24 days. AUB has a negative impact on physical, social, emotional and/or material well-being. The causes are organic or inorganic diseases. Abnormal bleeding can be a symptom of many diseases, including tumors. With untimely diagnosis, they can progress and cause even greater complications. Unfortunately, abnormal uterine bleeding of puberty, especially the first two years after the first menstruation, is assessed by many doctors as irregular menstruation, which leads to many complications. Early detection, qualified medical care will help to preserve the reproductive health of patients with this pathology.

In this article we will consider the methods of treatment for abnormal uterine bleeding of puberty in the emergency gynecological service.

Key words: abnormal uterine bleeding of puberty, gynecology of children and adolescents, hemostatic therapy, reproductive health.

Цель исследования — определить эффективность каждого метода лечения аномальных маточных кровотечений пубертатного периода (АМКПП) при экстренных обращениях, обеспечивающих рациональный подход к терапии и профилактике рецидивов заболевания.

Материал и методы. Обследованы 130 девочек с АМКПП, госпитализированных в стационар по экстренным показаниям в период 2021г. Возраст обследуемых пациенток — от 9 до 17 лет (средний возраст составил 12,8±1,4 года). Длительность кровотечения от 9 до 60 дней (в среднем 30 дней).

Актуальность – В связи с акселерацией, омоложением многих заболеваний, в том числе добро- и злокачественных, важностью сохранением репродуктивной функции (в будущем возможность забеременеть и сохранить беременность), частые проявления кровотечений могут стать причиной в будущем рака эндометрия, очень важно своевременно выявить разные нарушения менструальной функции, особенно аномальное маточное кровотечение и оказать необходимую помощь. Аномальное маточное кровотечение пубертатного периода можно сказать на первом месте причин при обращении к гинекологу.

Анализируя данные исследований, можно сделать вывод, что не всегда надо сразу начинать гемостатическую терапию с комбинированными низкодозированными эстрогенгестагенными. При обращении девочек с аномальным маточным кровотечением надо тщательно провести сбор анамнеза и осмотр для оценки длительности, объема кровопотери, оценки риска осложнений, причин.

За 2021г в Центре репродуктивного здоровья были пролечены 130 девочек с аномальным маточным кровотечением, проводилась как симптоматическая, так же гормональная гемостатическая терапия. Выбор метода лечения зависит от проявления аномального маточного кровотечения (длительность, объем), возникновения осложнений (степень анемии), данных клинико- лабораторных и инструментальных исследований. Во время осмотра осуществляется подробный сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, при котором выявляется кровяные выделения из половых путей разной степени выраженности, может сопровождаться болями в животе, при осложненных случаях слабостью, тошнотой, головокружением, до потери сознания. Проводится ультразвуковое исследование органов малого таза, большую роль играет толщина эндометрия, один из критерий выбора метода гемостатической терапии. В обязательном порядке так же проводят лабораторное исследование – клинический анализ крови (оценивается уровень гемоглобина). Можно сделать следующий вывод:

Диагностика при аномальных маточных кровотечениях у девочек и девушек должна включать в себя:

- 1) Сбор гинекологического и общего осмотра
- 2) Бимануальное и ректоабдоминальное исследование
- 3) УЗИ органов малого таза
- 4) Клиническое исследование (ОАК)

На основании полученных данных проводится выбор метода лечения: при сборе анамнеза – количество используемых прокладок в день, длительность кровяных выделений, во время осмотра – оценивается цвет и влажность кожи и слизистой, по УЗИ ОМТ – толщина эндометрия, по ОАК- уровень гемоглобина.

Лечение:

Гемостатическая – в себя включает:

1. **Симптоматическая терапия**, в себе включает викасол, этамзилат, более эффективный вариант выбора транексамовая кислота, необходимую дозировку вычитается по массе тела (15-25мг/кг), суточная максимальная дозировка от 1000- 2000мг. Критерии для выбора данного метода лечения являются – не выраженные кровяные выделения, в день используемые прокладки составляют от 5 до 10 штук и длительность кровотечения, но не приводит к изменению уровня гемоглобина, что значит нормальный уровень по ОАК, или не большое снижение гемоглобина (>105), по данным УЗИ ОМТ нет признаков гиперплазии эндометрия (менее 8мм). В исследовании у 30% девочек отмечалось улучшение уже на трети сутки приема транексамовой кислоты, 10% на 5 сутки, длительность данного метода лечения составляет 5-7 дней.

2. **Гормональная терапия** – это комбинированные низкодозированные эстрогенгестагены, критерии выбора данного метода являются – кровяные выделения из половых путей с анемией разной степени тяжести и изменением эндометрия (утолщение более 7-8 мм). У 48% девочек отмечалось улучшение уже на 1-2 сутки после приема, у 10% на 3-5 сутки, у 2% на 7 сутки.

Но не зависимо от метода лечения, при экстренном обращении, нельзя исключать повторения АМК в пубертатном периоде после положительного эффекта. Не смотря на более высокую эффективность гормонального метода лечения, учитывая вышесказанные критерии для выбора терапии, желательно начинать с симптоматической гемостатической терапии.

Заключение:

При обращении девочек с АМК ПП, не зависимо от даты первой менструации, надо оценить длительность, объем кровотечения, провести лабораторное исследование (ОАК), УЗИ ОМТ. Что значительно уменьшит осложнения и даст возможность своевременному проведению гемостатической терапии.

После получения положительного эффекта от любого метода гемостатической терапии, надо продолжить наблюдение и обследования амбулаторно, для выявления причин АМК ПП, и выбрать наиболее подходящий метод лечения в конкретных случаях. Полученные данные исследования послужили для выбора подходящей терапии в экстренной гинекологической службе при АМК ПП.

Список литературы

1. **ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И КЛИНИКА МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)** Адамян Л.В., Богданова Е.А., Сибирская Е.В., Казначеева Т.В., Осипова Г.Т. Проблемы репродукции. 2011. Т. 17. № 5. С. 33-37.
2. **ПРОБЛЕМА ЭНДОМЕТРИОЗА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)** Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Тарбая Н.О. Проблемы репродукции. 2016. Т. 22. № 3. С. 71-76.
3. Кулаков В.И., Савельева Г.М., Манухин И.Б., Радзинский В.Е. Гинекология. Национальное руководство. М. 2017. [KulakovVI, Savel'evaGM, ManuhinIB, RadzinskijVE. Ginekologiya. Nacional'noerukovodstvo. M. 2017. (In Russ.).]
4. Веселова Н.М. Маточные кровотечения пубертатного периода: Дис. ...д-ра мед. наук,- М.,2007.-189с.
5. Гуркин Ю.А. Детская и подростковая гинекология / М.: Медицинское информационное агенство, 2009. - 698 с.
6. Коколина В.Ф. Маточные кровотечения пубертатного периода. Пособие для врачей. - М.: «Адамант»,2011.-40с.
7. Ревич Б.А. Свинец и здоровье детей // В сб. «Экологические и гигиенические проблемы здоровья детей и подростков». - М., 1998, С.229-261.
8. Caufirez A. Menstrual disorders in adolescence: Pathophysiology and treatment // Horm Res. 1991. Vol36. P. 156
9. Уварова Е.В. Репродуктивное здоровье девочек России в начале XXI века// Акушерство и гинекология - Приложение. -2006- С. 27-30.
10. Deligeoroglou E., Karountzos V., Creatsas G. Abnormal uterine bleeding and dysfunctional uterine bleeding in pediatric and adolescent gynecology. Gynecol Endocrinol. 2013; 29 (1): 74-8.
11. Deligeoroglou E.K., Karountzos V. Dysfunctional uterine bleeding as an early sign of polycystic ovary syndrome during adolescence: an update. MinervaGinecol. 2017; 69 (1): 68-74.
12. Fraser I.S., Sungurtekin U. Defining menstrual disturbances. In: A. Maclean, P.M.S. O'Brien (eds). Study Group on Menstrual Disorders. Royal College of Obstetricians and Gynecologist, 2000: 141-52.
13. Jayasinghe Y., Moore P., Donath S., Campbell J., et al. Bleeding disorders in teenagers presenting with men-orrhagia. Aust N Z J Obstet Gynecol. 2005; 45 (5): 439-43.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ У ПОДРОСТКОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

Сибирская Е.В.^{1,2,3}, Волкова Е.А.², Бдоян В.В.², Бурханская Е.Д.², Папаян Л.Г.²

¹Кафедра репродуктивной медицины и хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия;

²Центр охраны репродуктивного здоровья подростков Московской области, Долгопрудный, Россия

³ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Резюме

Приведен анализ данных литературы, посвященных проблеме синдрома поликистозных яичников у девочек-подростков, диагностике, клиническому течению и тактике ведения.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, девочки-подростки, диагностика, лечение.

The polycystic syndrome in adolescent girls (a review)

Sibirskaya E.V.^{1,2,3}, Volkova E.A.², Papyan L.G.², Bdoyan V.V.², Burganskaya E.D.²

¹Department of Reproductive Medicine and Surgery of Post-Graduate Education Faculty of the state educational institution of higher professional education «Moscow State University of Dentistry»;

²The centre for adolescent reproductive health of Moscow region, Dolgoprudny, Russia

³Russian Children's Clinical Hospital FSAEI HE RSMU n.a. N.I. Pirogov.Ministry of Health of Russian Federation

Abstract

There is analysis of literature on the problem of polycystic ovary syndrome in adolescent girls, diagnosis, clinical course and management tactics is presented.

Keywords: polycystic syndrome, adolescent girls, diagnosis, treatment.

Синдром поликистозных яичников является эндокринным заболеванием женщин репродуктивного возраста, в высокой степени ассоциированное с метаболическими, психологическими нарушениями, бесплодием и гиперпластическими процессами эндометрия. Оно часто манифестирует в подростковом возрасте, поэтому крайне важна ранняя диагностика заболевания и его предикторов у пациенток этого возраста. [1].

По разным данным во всем мире синдром поликистозных яичников встречается среди 6-19,9% женщин репродуктивного возраста. [2].

Согласно Роттердамскому диагностическому консенсусу (2003) было выделено три основных критерия, позволяющих верифицировать диагноз СПКЯ. Наличие любых двух из них определяет определенный фенотип СПКЯ. [3].

Фенотипы

	Ановуляция	Гиперандрогения (клиническая биохимическая)	и/или	Поликистозная структура яичников по данным УЗИ
Вид (фенотип) («классический»)	A +	+		+
Вид (фенотип) («ановуляторный»)	B +	+		
Вид (фенотип) («овуляторный»)	C	+		+
Вид (фенотип) («неандрогенный»)	D +			+

Однако данные критерии не учитывают процессы нормального полового созревания, которые у подростков могут походить на симптомы формирующегося заболевания.

На Амстердамском консенсусе в 2011г. специалисты по данной проблеме предположили, что все три элемента Роттердамских критериев должны присутствовать у подростков для диагностики СПКЯ.

Нарушение менструального цикла

Важным проявлением СПКЯ является нарушение менструального цикла в виде олигоановуляции.

Продолжительность цикла более 90 дней для хотя бы одного цикла на первом году после менархе, менее 21 или более 45 дней от 1 до 3 лет после менархе; первичная аменорея к 15 годам или после 3 лет после телархе, менее 21 или более 35 дней или менее 8 циклов в год в период от 3 лет после менархе должны стать поводом для подозрения СПКЯ. [4]. Не рекомендуется рассматривать данный критерий отдельно от других проявлений СПКЯ.

Гиперандрогения

Основные клинические признаки гиперандрогемии при СПКЯ – гирсутизм, акне и андрогенная алопеция. Распространенность акне среди подростков велика и в качестве клинического признака рассматриваются только выраженные акне. [5]. Более важным признаком ГА является гирсутизм, с оценкой по шкале Ферримана-Галлвея с учетом расовой принадлежности.[6]. Подтверждением гиперандрогении так же является обнаружение превышающих нормативные параметры уровня свободного тестостерона крови расчетным методом, используя индекс свободных андрогенов, или биодоступный тестостерон у подростков с симптомами СПКЯ, уровеньдигидротестостерона.[7]. Для СПКЯ так же характерно повышение уровня ЛГ по сравнению с ФСГ более чем в 2 раза и уровня биоактивных форм ЛГ. Менее специфичным является повышение уровня андростендиона и дегидроэпиандростерон-сульфата.[8]. Рекомендуется проводить скрининг на врожденную дисфункцию коры надпочечников и гипотиреоз для дифференциальной диагностики, поскольку это заболевание может сопровождаться похожими симптомами.

УЗ критерии

Критериями диагностики СПКЯ являются объем яичников равный или больше 10 см³ при отсутствии желтого тела, кист или доминантных фолликулов, а при влагалищном исследовании так же наличие 20 и более фолликулов диаметром 2-9 мм в любом яичнике, расположенные по периферии. Значение ультразвуковых параметров поликистозных яичников не рекомендуется использовать в течение 8 лет после наступления менархе. [4, 8]. Это связано с частым обнаружением мультифолликулярных яичников в пубертатном периоде, которые могут быть приняты за поликистозные [8], а также с недостаточной диагностической точностью, особенно при ожирении, трансабдоминальном исследовании у этой возрастной группы.

Мультифолликулярные яичники описываются небольшим числом фолликулов диаметром 4–10 мм, которые расположены по всему яичнику и нормальными размерами яичника. Такая ультразвуковая картина распространена и является вариантом нормы для девушек в пубертатном периоде, а не признаком СПКЯ.

Метаболические нарушения

Ни в одном руководстве ожирение и резистентность к инсулину не рассматриваются в качестве отдельных диагностических критериев. Однако они в высокой степени ассоциированы с заболеванием. У подростков с СПКЯ метаболический синдром встречается значительно чаще в сравнении с здоровыми девушками такой же возрастной группы и индексом массы тела [10]. Необходимыми элементами физикального обследования являются, оценка распределения подкожно-жировой клетчатки и характера и степени ожирения (определение индекса массы тела, оценки соотношения объема талии и бедер, определение толщины кожной складки). Рекомендуется оценка гликемического статуса при обследовании на СПКЯ (глюкоза натощак, ПГТТ, уровень гликированного гемоглобина, углеводный тест с внутривенным введением инсулина и одновременной инфузией глюкозы для поддержания стабильного уровня гликемии). Установлена прямая связь между степенью нарушения менструального цикла и индексом массы тела пациенток с СПКЯ, а также между инсулинорезистентностью и ГА.

Уровень АМГ

Не рекомендуется использовать в качестве диагностического критерия. Хотя сывороточные уровни АМГ у подростков и взрослых женщин с морфологией поликистозных яичников и СПКЯ значительно выше, чем у лиц без этих признаков, во всех проанализированных исследованиях [2, 14,15] наблюдалось значительное совпадение в уровнях, а также в неоднородности исследований по многим параметрам, включая использование различных критериев для диагностики СПКЯ.

Генетика

В литературе описываются семейные случаи СПКЯ, что предполагает важную роль множества генетических факторов в этиологии этого заболевания. Большинство специалистов считает тип наследования СПКЯ полигенным, при котором несколько генов контролирует полиорганный характер заболевания, что обуславливает различные фенотипические проявления.

Лечение

Лечение СПКЯ направлено на коррекцию нарушений менструального цикла, устранение жалоб и улучшение качества жизни.

У девушек с ассоциированным ожирением и метаболическими нарушениями в первую очередь следует начать с модификации образа жизни - подбор сбалансированного питания, редуцированная диета, регулярная физическая нагрузка. Вовремя начатая коррекция метаболических нарушений приводит к нормализации гормонального статуса и в итоге к восстановлению менструальной функции. В качестве лекарственной терапии первой линии в клинических рекомендациях значатся комбинированные оральные контрацептивы. [16].

В качестве второй линии терапии используется Метформин у пациенток с СПЯ и нерегулярными менструациями в случае наличия противопоказаний к использованию КГК или их непереносимости. Метформин может оказывать терапевтический эффект в группах женщин с высоким метаболическим риском — он стимулирует овуляцию и улучшает вес, снижает резистентность к инсулину, метаболические параметры и уровень андрогенов.

Медикаментозное лечение может занять не менее 6-9 месяцев до клинического эффекта.

Заключение:

Сложность поднятой темы заключается в том, что диагностика СПКЯ в детском и взрослом возрасте во многом отличается, в то время как пока что нет валидизированных диагностических критериев заболевания у подростков, а имеющиеся параметры позволяют лишь заподозрить формирование СПКЯ и сформировать критерии юных пациенток “подверженных риску СПКЯ”. Отдельные признаки СПКЯ могут наблюдаться при нормальном периоде полового созревания и оказаться транзиторными явлениями.

Синдром поликистозных яичников у подростков следует рассматривать в общем контексте всех причин нарушений менструального цикла после исключения неклассической формы врожденной гиперплазии надпочечников, гиперпролактинемии, эндогенного синдрома Кушинга, тиреоидной дисфункции и вирилизирующих опухолей яичников.

Диагноз основывается на вышеописанных в статье критериях, объединенных в три группы.

Своевременное выявление признаков СПКЯ и лечение может предотвратить возможные репродуктивные, метаболические и психологические проблемы, связанные с синдромом.

Модификация образа жизни с изменением питания и снижение веса могут эффективно воздействовать на клинические проявления СПКЯ и улучшить исходы заболевания. Медикаментозные варианты терапии для подростков должны быть рекомендованы на основе основных клинических рекомендаций по лечению данного заболевания и основываться на безопасности применения в подростковом возрасте.

Список литературы.

1 – Л.В. Адамян, З.Н. Макиян, Т.М. Глыбина, Е.В. Сибирская, А.А. Плоскина. Особенности диагностики и лечения синдрома поликистозных яичников у девочек-подростков (аналитический обзор) //Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2014. – №. 3 (56). – С. 16-22.

2 - Neven ACH, Laven J, Teede HJ, Boyle JA. A Summary on Polycystic Ovary Syndrome: Diagnostic Criteria, Prevalence, Clinical Manifestations, and Management According to the Latest International Guidelines. *Semin Reprod Med.* 2018;36(1):5-12.

3 - The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reproduct*2004;19:41-7; *FertilSteril* 2004;81:19-25.

4 – Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, Piltonen T, Norman RJ; International PCOS Network. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *FertilSteril.* 2018 Aug;110(3):364-379.

5 - Lause M, Kamboj A, Fernandez Faith E. Dermatologic manifestations of endocrine disorders. *TranslPediatri.* 2017 Oct;6(4):5305-13.

6 - Neven ACH, Laven J, Teede HJ, Boyle JA. A Summary on Polycystic Ovary Syndrome: Diagnosis Criteria, Prevalence, Clinical Magnifestations, and Management According to the Latest International /guidelines. *Semin Reprod Med.* 2018;36(1):5-12; Ezeh U, Huang A, Landay M, Azziz R. Long-Term Response of Hirsutism and Other Hyperandrogenic Symptoms to Combination Therapy in Polycystic Ovary Syndrome. *J Womens Health (Larchmt)* 2018 Jul; 27(7):892-902.

7 - Goodman NF, Cobin RH – American Association of Clinical Endocrinologists; American College of Endocrinology; Androgen Excess and PCOS Society. Androgen Excess and Pcos Society Disease State Clinical Review; Guide to the best practices in the evaluation and treatment of polycystic ovary syndrome. *EndocrPract.* 2015 Dec;21(12):1415-26.

8 - Peña AS, Witchel SF, Hoeger KM, Oberfield SE, Vogiatzi MG, Misso M, Garad R, Dabadghao P, Teede H. Adolescent polycystic ovary syndrome according to the international evidencebased guideline. *BMC Med.* 2020 Mar 24;18(1):72. doi: 10.1186/s12916-020-01516-x. PMID: 32204714; PMCID: PMC7092491.

9 – Mędza A., Kaźmierska K., Wielgomas B., Konieczna L., Ołędzka I., Szlagatys-Sidorkiewicz A., et al. DeltaF508 CFTR hetero- and homozygous paediatric patients with cystic fibrosis do not differ with regard to nutritional status. *Nutrients.* 2021; 13(5): 1402. <https://doi.org/10.3390/nu13051402>

10 - Молекулярно-генетические предикторы формирования синдрома поликистозных яичников и его андрогенных фенотипов / Г. Е. Чернуха, А. А. Найдуква, Е. К. Каприна, А. Е. Донников // *Акушерство и гинекология.* – 2021. – № 4. – С. 120-127. – DOI 10.18565/aig.2021.4.120-127. – EDN MAHRJO.12 - RosenfieldRL. Perspectives on the International Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescence. *J PediatrAdolesc Gynecol.* 2020 June

11-Хроническое системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома, с соцированного с гиперандрогенизм (обзор литературы) / И. А. Игумнов, Э. М. Шарифулин, Л. В. Бельская [идр.] // *Патогенез.* – 2020. – Т. 18. – № 3. – С. 12-18. – DOI 10.25557/2310-0435.2020.03.12-18. – EDN GBLLMJ.

12 - Bani Mohammad M, MajdiSeghinsara A. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), Diagnostic Criteria, and AMH. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017 Jan 1;18(1):17-21.

13 - Teede H, Misso M, Tassone EC, Dewailly D, Ng EH, Azziz R, Norman RJ, Andersen M, Franks S, Hoeger K, Hutchison S, Oberfield S, Shah D, Hohmann F, Ottey S, Dabadghao P, LavenJSE. Anti-Müllerian Hormone in PCOS: A Review Informing International Guidelines. *TrendsEndocrinolMetab.* 2019 Jul;30(7):467-478

14 - Клинические рекомендации МЗ Российской Федерации “Синдром поликистозных яичников” 2021г. Разр.: Российскоеобществоакушеров-гинекологов, Российскаяассоциацияэндокринологов

НАРУШЕНИЯ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА У ПОДРОСТКОВ, ВЫЗВАННЫЕ ПАНДЕМИЕЙ COVID-19. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Сибирская Е.В.^{1,2}, Караченцова И.В.^{2,3}, Кириллова Ю.А.², Лошкарева М. А.⁴, Красивская А.В.⁴

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, г. Москва, Россия;

²ОСП РДКБ ФГАУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 119571, г. Москва, Россия;

³ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия;

⁴ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)», 119048, г. Москва, Россия;

Резюме:

Ученые изучают COVID-19 с самого начала пандемии, и уже есть надежные данные о влиянии вируса SARS-CoV-2 на дыхательную, кровеносную и нервную системы. Однако, мало что известно о влиянии COVID-19 на женскую репродуктивную систему, особенно на половое здоровье девочек-подростков. О последствиях пандемии COVID-19 на женскую репродуктивную систему и изменениях в менструальном цикле широко рассказывалось в отдельных случаях и в средствах массовой информации, тем не менее, на сегодняшний день имеющиеся данные недостаточно надежны, чтобы делать однозначные выводы по этому вопросу. Целью данного обзора литературы было определить, насколько повлияла пандемия коронавирусной инфекции на более молодых представителей населения, а именно девочек подросткового возраста, и как она отразилась на их репродуктивном здоровье. Был проведен анализ международных публикаций с 2019 по 2022 г. Для поиска были использованы базы данных PubMed, Embase, CochraneLibrary и Google Академия. Были включены систематические обзоры, мета-анализы, рандомизированные клинические исследования.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, Менструальный цикл, девочки, девочки-подростки.

Menstrual irregularities in adolescents caused by the COVID-19 pandemic. literature review.

Elena V. Sibirskaia^{1,2}, Irina V. Karachentsova^{2,3}, Julia A. Kirillova², Maria U. Loshkareva⁴, Anna V. Krasivskaya⁴

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, 127473, Moscow, Russia;

²Russian Children's Clinical Hospital, Pirogov Russian National Research Medical University, 119571, Moscow, Russia;

³Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), 117997, Moscow, Russia;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119048, Moscow, Russia;

Abstract

Scientists study COVID 19 from the beginning of pandemic. Today we have reliable data on the impact of the virus SARS-CoV-2 on respiratory, circulatory and nervous systems. But there is little data about COVID-19 impact on female reproductive system, especially on sexual health of adolescent girls. The effects of the COVID-19 pandemic on the female reproductive system and changes in the menstrual cycle have been widely reported on individual cases and in the media, but nowadays the available data are not sufficiently reliable to draw unambiguous conclusions on this issue. The target of this research was to determine how the coronavirus pandemic affected on younger members of the population, namely adolescent girls, and how it affected their reproductive health. Analysis was made of international publications from 2019 to 2022. PubMed, Embase, Cochrane Library and Google

Academy databases were used for the search. Systematic reviews, meta-analyses, randomized clinical trials were included for this research.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Menstrual cycle, girls, teenage girls.

Введение:

Менструальный цикл – естественный, физиологический процесс, циклично происходящий в организме женщины в репродуктивном возрасте. Менструальный цикл начинается в первый день менструального кровотечения и заканчивается с началом следующей менструации. Нормальная продолжительность одного цикла составляет в среднем 28 дней, но этот интервал может колебаться от 21 до 35 дней в зависимости от продолжительности фолликулярной фазы цикла. [1] Возникновение и последующая регуляция менструации происходят в результате сложного взаимодействия между гормонами гипоталамуса (гонадотропин-рилизинг-гормон, ГнРГ), гипофиза (фолликулостимулирующий гормон, ФСГ; лютеинизирующий гормон, ЛГ) и гормонами яичников (эстрогены, андрогены), важную роль так же играют гормоны щитовидной железы, надпочечников. Продолжительность менструального кровотечения составляет чаще всего от 5 до 8 дней, в течение которых происходит потеря от 30 до 80 мл крови. [2]

Нормальный и регулярный менструальный цикл жизненно важный показатель, который дает нам важную информацию о репродуктивном здоровье женщины, а также ее общем состоянии здоровья. В связи с этим необходимо помнить о влиянии многочисленных факторов среды, которые могут влиять на секрецию гормонов и, таким образом, потенциально нарушить регулярность цикла. Девочки в подростковом возрасте особенно склонны к нарушению менструального цикла, так как в этот период жизни происходят многочисленные физические и психические изменения. Подсчитано, что почти 75% девочек во всем мире сталкивается с проблемами, связанными с менструацией. [3] Наиболее распространенными нарушениями являются: дисменорея, предменструальный синдром и нерегулярность менструального цикла. Упомянутые расстройства могут существенно влиять на качество жизни девушек и затруднять их работоспособность и ежедневный образ жизни. [4]

Известно, что периоды стресса и психологического дистресса влияют на менструальное здоровье женщин. Стрессовые факторы активируют гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось и могут изменить нейромодулирующий каскад, который управляет регуляцией гонадотропин-рилизинг-гормона. Это может привести к функциональной гипоталамической аменорее (ФГА), хронической ановуляции, которая не связана с органической причиной. [5, 6]

Привычки в еде также играют большую роль, особенно среди молодых женщин в процессе их физического развития, когда есть повышенные потребности в энергии. К сожалению, современный образ жизни часто сопровождается потреблением нездоровой пищи, обедненной питательными веществами. [7, 8] Нездоровому питанию отводится не последняя роль среди причин, связанных с увеличением частоты дисменорей. Прием фаст-фуда, богатого насыщенными жирными кислотами, с небольшим количеством микронутриентов, отрицательно влияет на метаболизм прогестерона в менструальном цикле, что, как следствие, вызывает большую частоту менструальных болей, выраженный предменструальный синдром и других нарушений цикла у девочек. Кроме того, подчеркивается важность регулярного приема пищи, особенно завтрака, который часто пропускают девочки-подростки. Регулярное питание важно для предотвращения ожирения и гинекологических проблем. [9, 10]

Другой фактор, который, напротив, положительно влияет на менструальный цикл — это физическая активность. Упражнения и физическая активность играют важную роль в снижении уровня раздражительности и депрессии, предменструальных и менструальных болей. Это происходит в первую очередь из-за повышенной секреции эндорфинов. [11] Таким образом, уменьшая менструальные жалобы, физическая активность способствует улучшению качества повседневной жизни, облегчению выполнения учебной и трудовой деятельности и снижению эмоционального стресса. [12]

Многочисленная пандемия, вызванная инфекцией SARS-CoV-2, существенно повлияла на качество повседневной жизни, а также на привычки людей. Возникшая ситуация способствовала повышению уровню тревоги, страха за свое

здоровье и благополучие близких, что представляет собой большой стресс для организма. Новые обстоятельства также повлияли на привычки в еде, повседневную деятельность и сон.

Наше исследование было проведено с целью определить, как повлияла пандемия коронавирусной инфекции на менструальный цикл девочек подростков.

Обеуждение:

Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), по состоянию на сентябрь 2022 года стала причиной более 620 миллионов заражений и 6,5 миллиона смертей во всем мире, по данным ВОЗ COVID-19. О влиянии COVID-19 на женскую репродуктивную систему и изменениях в менструальном цикле неоднократно сообщалось в СМИ. И если среди взрослого населения, а именно женщин репродуктивного возраста от 18 лет, исследования ведутся сравнительно часто, то детский и подростковый возраст девочек представляет собой недостаточно исследованную часть.

Нами были проанализированы систематические обзоры, рандомизированные исследования, мета-анализы, которые включали в себя сбор и оценку информации о влиянии коронавирусной инфекции на менструальный цикл девочек-подростков.

Масштабную работу провела команда TodićandMihajlović, 2022. В первую очередь авторы обращали внимание на регулярность цикла у молодых девушек в период пандемии, а также на внешние факторы, которые могли эту регулярность сбить.

В исследовании приняли участие 169 респондентов, учащихся белградских средних школ и студентов Белградского университета, со средним возрастом 20 лет. Участники заполняли анкету об особенностях менструального цикла и некоторых привычках своей повседневной жизни в период с декабря 2019 года по октябрь 2020 года. Критерий для включения в исследование был возраст от 15 до 25 лет.

Пищевые привычки

Наблюдая за пищевыми привычками респондентов, наибольшее количество девушек сообщили, что они во время пандемии стали питаться здоровее. Эта информация имела большое значение для исследования, так как в литературе описана взаимосвязь между нерегулярным приемом пищи, особенно пропуском завтрака, чрезмерным потреблением пищи и возникновением аномалий с циклом. [13] Поэтому, изменение этой привычки в течение более длительного периода является фактором, который может потенциально положительно влиять на регулярность цикла. [10]

Мобильные устройства

Наибольшее число респондентов (77,5%) указали на увеличение времени, проведенное в использовании мобильных устройств и компьютеров. Одно из исследований, проведенное во время пандемии, указывает, что активность на мобильных телефонах и других цифровых устройствах, в частности, в поздние вечерние часы — это фактор, положительно коррелирующий с появлением нарушений менструального цикла. [14]

Стресс

Учитывая, что глобальная пандемия, как и другие социальные катаклизмы, является потенциальным стрессом, который может непосредственно влиять на регулярность менструального цикла, в этом исследовании также изучалось влияние изменений в повседневной жизни, наличия инфекции SARS-CoV-2 среди членов семьи на повышение тревожности у респондентов женского пола. [15] Полученные результаты показали, что у большинства девушек (60,4%) сложившаяся ситуация не вызвала серьезного беспокойства. Однако, не стоит игнорировать оставшуюся группу испытуемых, в которой были зафиксированы повышенная тревожность и стресс, которые влияют на развитие различных нарушений, связанных с циклом (амеорея, дисменорея, предменструальный синдром), что в дальнейшем может отрицательно сказаться на

репродуктивном здоровье.[16,17] Учитывая недостаточно длительный период наблюдения, результаты данного исследования ограничены с точки зрения влияния вышеупомянутых факторов.

Анализируя данные менструального календаря исследованных девушек, авторы пришли к выводу, что не существует статистически значимой разницы по средней продолжительности цикла по сравнению с периодом до пандемии. У большинства девушек (от 80 до 95%) циклы по-прежнему регулярны. Учитывая, что в исследовании изучались лишь некоторые факторы, влияющие на регулярность цикла, а также длительный период пандемии, но недостаточно длительный период мониторинга, нельзя с уверенностью исключить влияние пандемии SARS-CoV-2 на менструальный цикл молодых людей.

Анонимное обсервационное исследование провели Phelan, Behan and Owens, 2021. Опрос распространялся в течение 2 недель во второй половине сентября 2020 года. Всего опрос заполнила 1031 женщина.

Итоги работы показали, что:

- 441/46% женщин указали на общие изменения своего менструального цикла во время пандемии COVID-19
- 483/53% сообщили об ухудшении предменструальных симптомов (ПМС)
- 255/29% отметили сокращение продолжительности цикла (среднее сокращение составило 3 дня (2–6))
- 28% сообщили о более длительном цикле со средним увеличением на 3 дня (2–6)
- Медиана количества дней кровотечения составила 5 (4–6) и не изменилась по сравнению с периодом до пандемии ($p = 0,3$)
- 158/17% женщин не имели месячных во время пандемии, что на 4%/27 больше, чем до пандемии ($p = 0,0003$)
- 72/9% испытуемых сообщили о новых пропусках менструаций, из которых 56/7% были единичными, а 16/2% — частыми. Среднее количество пропущенных периодов было 2 (1-3)
- 447/47% женщины сообщили об обильных менструациях, что на 27/5% больше, чем до пандемии ($p = 0,003$)
- 469/49% сообщили о болезненных менструациях, что на 53/7% больше, чем до пандемии ($p < 0,0001$). 173/30% сообщили о новых болезненных менструациях
- 467/45% сообщили о снижении либидо

Респонденты так же указали на значительное увеличение частоты симптомов психического характера, 868/84% женщин сообщили о наличии хотя бы одного симптома:

- плохое настроение (519/50%, $p < 0,0001$),
- тревога (514/50%, $p < 0,0001$),
- плохой сон (509/49%, $p < 0,0001$),
- сильный стресс (373/36%, $p < 0,0001$),
- переживание (373/36%, $p < 0,0001$),
- плохая концентрация (373/36%, $p < 0,0001$),
- одиночество (373/36%, $p < 0,0001$),
- плохой аппетит (373/36%, $p < 0,0001$)
- избыточное употребление алкоголя (373/36%, $p < 0,0001$).

Женщины, которые сообщили об одном или нескольких случаях плохого настроения, беспокойства или сильного стресса, значительно чаще сообщили об общем изменении своих менструальных циклов с начала пандемии (50% против 34%, $p < 0,0001$).

Эти женщины с симптомами психического профиля также чаще сообщали о болезненных менструациях (54% против 36%, $p < 0,0001$), ухудшении предменструальных симптомов (62% против 32%, $p < 0,0001$), а также о снижении либидо (51. % против 31%, $p < 0,0001$). 18% женщин, которые испытывали плохое настроение, тревогу и/или значительный стресс, сообщили об отсутствии менструаций с начала пандемии.

Это крупное анонимное обсервационное исследование показало, что значительная часть женского населения столкнулась с нарушением репродуктивного здоровья в результате пандемии COVID-19. Нарушения связаны со значительным усилением симптомов психических расстройств, а также с увеличением веса, увеличением продолжительности рабочего дня и нездоровым питанием.

Респонденты сообщали о нарушениях менструального цикла, которые, как известно, связаны с психологическим дистрессом. Стресс оказывает тормозящее действие на гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось (ГТГ). Гормоны стресса ингибируют высвобождение ГнРГ из гипоталамуса, а глюкокортикоиды ингибируют высвобождение лютеинизирующего гормона (ЛГ) и выработку эстрогена и прогестерона яичниками. [18] Стресс регулирует ГТГось посредством активации гипоталамических симпатических нервных путей, что приводит к высвобождению норадреналина.[19]

В исследованииFunctionalHypothalamicAmenorrhoeainAdolescentgirlsas a ResultofStress-RelatedConditionsin Covid-19 PandemicSituation, 2021обращают внимание на проблему функциональной гипоталамической аменореи. Недавняя ситуация с пандемией негативно сказалась на физическом и психическом здоровье подростков. В то время как есть общая тенденция к набору веса из-за снижения повседневной деятельности, как было отмечено во всем мире, мы можем наблюдать рост случаев функциональной гипоталамической аменореи у девочек-подростков, которая, наоборот, связана с потерей веса, стрессом и перенапряжением в ответ на фобию увеличения веса [20]. Склонность к чрезмерным физическим нагрузкам, сокращению употребления калорий, вызывает интенсивную потерю массы тела.

Психологическое состояние усугубляется отсутствием социальных связей, повышенной тревожностью, чрезмерным употреблением социальных сетей. Особенно, уязвимый те, кто склонен к неравной анорексии. Проблема особенно обострилась во время пандемии коронавирусной инфекции и не стоит относиться к ней скептически, так как большинство молодых девушек не осознают, что ФГА имеет серьезные краткосрочные и долгосрочные гормональные, метаболические, нейropsychиатрические последствия, включая бесплодие, остеопороз, повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний и психических заболеваний. [21, 22]

О связи между предменструальными симптомами и симптомами посттравматического стресса при COVID-19 сообщили в исследовании Takeda, KaiandYoshimi, 2021.

Так как психосоциальный стресс является фактором риска предменструальных симптомов, целью исследования было изучение связи между предменструальными симптомами и стрессом, вызванным COVID-19. Были проанализированы данные 871 ученицы с регулярными менструальными циклами, которые заполнили опросник предменструальных симптомов, шкалу страха перед COVID-19 и пересмотренную версию шкалы влияния событий.

В середине декабря 2020 года был проведен школьный опрос с выборкой из 1351 японской ученицы из двух государственных старших классов средней школы в Сендае, крупнейшем городе на северо-востоке Японии. Всего на анкету ответила 1141 студентка, 945 студенток имели регулярный менструальный цикл (25-38 дней).

Это исследование выявило связь между посттравматическим синдромом, связанным с пандемией, и тяжестью предменструальных симптомов, в частности наличие болей вовремя и до менструации. Во время пандемии наблюдалось значительное увеличение случаев предменструального синдрома и усугубление уже имеющихся симптомов дисменореи.

Предменструальные симптомы представляют собой совокупность различных поведенческих и физических симптомов, характерных для поздней лютеиновой фазы менструального цикла. [23] Хотя точная патофизиология ПМС остается неизвестной, были предложены возможные причины, включая гормональные колебания, серотонинергическую дисфункцию, дисфункцию гамма-аминомасляной кислоты, стрессовые жизненные события и неправильный образ жизни.

[24,25] Подростковый возраст является переходным периодом от детства к взрослой жизни и является особенно уязвимым периодом для девочек-подростков, которые чаще страдают от посттравматического стрессового расстройства.[26]

Выводы:

О влиянии COVID-19 на женскую репродуктивную систему и изменениях в менструальном цикле неоднократно сообщалось, но, к сожалению, большая часть исследовательских работ была направлена на диагностику и мониторинг взрослого населения. Пандемия оказала колоссальный психологический, социальный и физический урон для всех возрастов, однако не стоит оставлять без оценки более молодой контингент, а именно девочек подросткового возраста. Исследования по этой теме еще слишком скудны, чтобы делать окончательные выводы, и необходимы дальнейшие исследования, однако уже сейчас можно сказать, что воздействие пандемии коронавирусной инфекции на менструальный цикл молодых девушек достаточно велико. Проблемы предменструального синдрома, нерегулярности цикла, а также дисменореи, связанные с пандемией COVID-19, должны подниматься и обсуждаться комплексно среди специалистов в области гинекологии, психиатрии, а также педиатрии.

Список использованной литературы

1. Pereira, H., Larson, R., & Bemben, D. (2020). Menstrual Cycle Effects on Exercise-Induced Fatigability. *FrontiersInPhysiology*, 11. doi: 10.3389/fphys.2020.00517.
2. Marshall, S., Senadheera, S., Parry, L. and Girling, J., 2017. The Role of Relaxin in Normal and Abnormal Uterine Function During the Menstrual Cycle and Early Pregnancy. *ReproductiveSciences*, 24(3), pp.342-354.
3. Poudel, P., 2022. Pattern of menstruation and its problem among adolescent girls: a school based cross-sectional study. *InternationalJournalofContemporaryPediatrics*, 9(7), p.635.
4. Deligeoroglou, E., Karountzos, V., Tsimaris, P. and Deligeoroglou, E., 2018. Endometriosis in Adolescence: Challenges and Opportunities for Managing Future Infertility. *InternationalJournalofGynecology&ClinicalPractices*, 5(1).
5. RUIZ-ZAMBRANA, A. and BERGA, S., 2020. A Clinician's Guide to Functional Hypothalamic Amenorrhoea. *ClinicalObstetrics&Gynecology*, 63(4), pp.706-719.
6. Gordon, C., Ackerman, K., Berga, S., Kaplan, J., Mastorakos, G., Misra, M., Murad, M., Santoro, N. and Warren, M., 2017. Functional Hypothalamic Amenorrhea: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(5), pp.1413-1439.
7. Bajalan, Z., Alimoradi, Z. and Moafi, F., 2019. Nutrition as a Potential Factor of Primary Dysmenorrhea: A Systematic Review of Observational Studies. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 84(3), pp.209-224.
8. Kim, H., Lee, U., Kim, S. and Cha, Y., 2019. Evaluation of dietary habits according to breakfast consumption in Korean adolescents: based on the 6th Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2013 ~ 2015. *Journal of Nutrition and Health*, 52(2), p.217.
9. Fujiwara, T., Ono, M., Iizuka, T., Sekizuka-Kagami, N., Maida, Y., Adachi, Y., Fujiwara, H. and Yoshikawa, H., 2020. Breakfast Skipping in Female College Students Is a Potential and Preventable Predictor of Gynecologic Disorders at Health Service Centers. *Diagnostics*, 10(7), p.476.
10. Łagowska, K., Kazmierczak, D. and Szymczak, K., 2017. Comparison of anthropometrical parameters and dietary habits of young women with and without menstrual disorders. *Nutrition & Dietetics*, 75(2), pp.176-181.
11. D.Swami, D., 2019. Prevailing Menstrual Hygiene Practices and help seeking behaviour among School going Adolescents Girls in Gwalior Township. *Journal of Medical Science And clinical Research*, 7(5).
12. Boustani, F., Ziaghani, S., Jahangirimehr, A. and Honarmandpour, A., 2019. Prevalence of Premenstrual Syndrome, Premenstrual Dysphoric Disorder and Associated Factors Among Female High School Students. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, pp.332-341.
13. Dandotiya, D., 2017. Effect of Skipping Breakfast on Young Girls' Menstruation. *Indian Journal of Youth and Adolescent Health*, 04(03), pp.17-20.

14. Vaidya, M. and Deshpande, S., 2021. Gadget usage pattern and sleep quality among medical undergraduates during COVID-19 lockdown: a cross-sectional study. *International Journal Of Community Medicine And Public Health*, 8(7), p.3440.
15. Park, S. and Park, S., 2018. Relationship between Menstrual Distress and Sleep Disturbance in Middle-school Girls. *Korean Journal of Women Health Nursing*, 24(4), p.392.
16. Takmaz, T., Gundogmus, I., Okten, S. and Gunduz, A., 2021. The impact of COVID -19-related mental health issues on menstrual cycle characteristics of female healthcare providers. *JournalofObstetricsandGynaecologyResearch*, 47(9), pp.3241-3249.
17. Alslman, E., Abu Baker, N. and Dalky, H., 2017. Mood and anxiety disorders among adolescent students in Jordan. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 23(9), pp.604-610.
18. Viau, V., 2017. Sex differences in the hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) axis and stress habituation. *Psychoneuroendocrinology*, 83, pp.88-89.
19. Meinel, S., Blohberger, J., Berg, D., Berg, U., Dissen, G., Ojeda, S. and Mayerhofer, A., 2015. Pro-nerve growth factor in the ovary and human granulosa cells. *HormoneMolecularBiologyandClinicalInvestigation*, 24(2).
20. Samarasinghe, S., Avari, P. and Muralidhara, K., 2018. Diagnosis and management of functional hypothalamic amenorrhoea - a case report. *Endocrine Abstracts*,.
21. Hornberger, L., Lane, M., Hornberger, L., Lane, M., Breuner, C., Alderman, E., Grubb, L., Powers, M., Upadhy, K., Wallace, S., Hornberger, L., Lane, M., FRCPC, M., Loveless, M., Menon, S., Zapata, L., Hua, L., Smith, K. and Baumberger, J., 2021. Identification and Management of Eating Disorders in Children and Adolescents. *Pediatrics*, 147(1).
22. Gordon, C., Ackerman, K., Berga, S., Kaplan, J., Mastorakos, G., Misra, M., Murad, M., Santoro, N. and Warren, M., 2017. Functional Hypothalamic Amenorrhea: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(5), pp.1413-1439.
23. Yonkers, K. and Simoni, M., 2018. Premenstrual disorders. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 218(1), pp.68-74.
24. Bixo, M., Ekberg, K., Poromaa, I., Hirschberg, A., Jonasson, A., Andréen, L., Timby, E., Wulff, M., Ehrenborg, A. and Bäckström, T., 2017. Treatment of premenstrual dysphoric disorder with the GABA A receptor modulating steroid antagonist Sepranolone (UC1010)—A randomized controlled trial. *Psychoneuroendocrinology*, 80, pp.46-55.
25. Hantsoo, L. and Epperson, C., 2020. Allopregnanolone in premenstrual dysphoric disorder (PMDD): Evidence for dysregulated sensitivity to GABA-A receptor modulating neuroactive steroids across the menstrual cycle. *Neurobiology of Stress*, 12, p.100213.
26. *New England Journal of Medicine*, 2017. Post-Traumatic Stress Disorder. 377(18), pp.1795-1797.

АНОМАЛЬНЫЕ МАТОЧНЫЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА: КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Адамян Л.В.¹, Сибирская Е.В.^{1,3}, Караченцова И.В.^{2,3}, Кириллова Ю.А.³, Лошкарёва М.А.⁴, Курабанова П.Ф.², Никишина А.В.⁴

¹Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

³ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

⁴Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В данной статье приведен анализ данных литературы, посвящённой аномальным маточным кровотечениям (АМК) у подростков, частоте встречаемости и причинах данной патологии, методах дифференциальной диагностики и лечении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Аномальные маточные кровотечения; детская гинекология; пубертатный период.

ABNORMAL UTERINE BLEEDING IN THE PUBERTAL PERIOD: CLINIC, DIAGNOSIS(review of literature).

Adamyan L.V.¹, Sibirskaia E.V.^{1,3}, Karachentsova I.V.^{2,3}, Kirillova Yu.A.³, Loshkareva M.A.⁴, Nikishina A.V.⁴, Kurbanova P.F.²

¹FGBOU VO MGMSU them. A.I. Evdokimov Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation

²Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation

³RCSH FGAOU VO RNIMU im. NI Pirogov

⁴First MSMU by Sechenov, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Abnormal uterine bleeding (AUB) is a term used to describe several different types of bleeding during puberty, including heavy menstrual bleeding, intermenstrual bleeding, and heavy and prolonged menstrual bleeding. This condition can be caused by immaturity of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis or hormonal conditions (e.g. polycystic ovarian syndrome). Moreover, the causes of AUB include bleeding disorders such as Willebrand Disease and energy metabolism disorders. Multiple-factor etiology of abnormal uterine bleeding in adolescence necessitates a collaborative approach between pediatricians, gynaecologists and haematologists to effectively manage this disease in young women.

KEYWORDS

Abnormal uterine bleeding; pediatric gynaecology; pubertal period.

Введение

В настоящее время проблема охраны репродуктивного здоровья детей и подростков приобретает все большую актуальность. Пубертатный период является критическим периодом в жизни женщины с точки зрения развития ее детородной функции, поэтому следует уделять особое внимание любым нарушениям формирования и функционирования репродуктивной системы.

Частой проблемой гинекологического профиля среди девочек-подростков является возникновение аномальных маточных кровотечений.

Аномальное маточное кровотечение (АМК) в пубертатном периоде — кровотечение из матки, чрезмерное по длительности (более 8 дней), объему кровопотери (более 80 мл) и/ или частоте (менее 24 дней), которое оказывает неблагоприятное влияние на физическое, социальное и эмоциональное благополучие, способность к вербальному обучению и память у девочек-подростков в возрасте от менархе до 17 лет включительно.[1]

Эпидемиология

По разным данным, маточные кровотечения возникают у 10-37% подростков[2]. У 33-69% заболевание имеет склонность к хроническому течению и рецидивам.[3]

Этиология и патогенез АМКПП

Выделения крови из матки могут возникать у пациенток любого возраста. Установление причины АМК усложняется редкими и поздними визитами подростков к врачу, а также недооцененности данной проблемы участковыми врачами-педиатрами и врачами женских

консультаций.

На сегодняшний день при рассмотрении причин АМК наиболее актуальной считается классификация Международной федерации гинекологии и акушерства (FIGO) PALM- COEIN, разделяющая эти причины на органические (структурные) и неорганические. [4-5]. Органические причины категории PALM, к которым относятся полипы, аденомиоз, лейомиома и малигнизация/гиперплазия, в пубертатном возрасте встречаются редко. Основными причинами кровотечений у пациенток этой возрастной категории являются коагулопатия, овуляторная дисфункция, нарушение функции эндометрия, ятрогенная и пока не поддающиеся определению нарушения (категория COEIN). [6]

Овуляторная дисфункция-одна из основных выявляемых причин АМК, затрагивающая до трети пациенток детородного возраста. При этом происходит нарушение циклического функционирования гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. В начале репродуктивной жизни эта система ещё не зрелая, что может приводить к физиологической ановуляции. Патологическая ановуляция часто связана с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), а также потерей или набором веса, стрессом, чрезмерными физическими упражнениями или приемом лекарств, влияющих на метаболизм дофамина (некоторые противозачаточные и нейролептические препараты). [7]

Сравнение уровня лептина, грелина и ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1) у группы девочек с АМК и группы здоровых пациенток показало, что у девочек с АМК уровень лептина и РАI-1 ниже, а уровень грелина-выше, чем у девочек, не страдающих АМК. Это показывает возможную взаимосвязь между АМК и нарушениями энергетического метаболизма и гемостаза [8].

По некоторым данным, 5-36% подростков с диагностированным обильным маточным кровотечением, имеют нарушение свертываемости крови, наиболее частым из которых является болезнь фон Виллебранда [9].

Классификация аномальных маточных кровотечений

Критерии выраженности кровотечения по шкале Мэнсфилда—Водэ—Йоргенсена, измеряемой прокладками или тампонами:

- Скудное (мажущее) - 1 или 2 капли или мазок крови на прокладке или верхушке тампона (для сексуально активных подростков - в менструальной чаше);
- Очень легкое - слабое пропитывание гигиенического средства со впитываемостью "light"/"normal", смена которого каждые 6 ч гарантирует защиту от протекания, ;
- Легкое кровотечение - неполное пропитывание гигиенического средства со впитываемостью "light"/"normal", смена которого через положенные по аннотации гигиенического средства каждые 6 ч также гарантирует защиту от протекания (при этом можно менять его по желанию и чаще);
- Умеренное - требуется обязательная смена полностью пропитанного гигиенического средства "normal" каждые 3-4 ч;
- Обильное - необходима смена полностью пропитанного гигиенического средства высокой впитывающей способности каждые 3-4 ч;
- Интенсивное (тяжелое) - вынужденная смена гигиенического супервпитывающего средства каждые 2 ч и менее [10].

При этом показаниями к госпитализации являются:

- острое аномальное маточное кровотечение, которое не уменьшается после симптоматической или гормональной медикаментозной терапии;
- угрожающее жизни снижение гемоглобина (ниже 70-80 г/л) и гематокрита (ниже 20%), нестабильная гемодинамика;
- необходимость хирургического лечения и гемотрансфузии.

Диагностика аномальных маточных кровотечений.

Клиническим проявлением данной патологии является появление кровяных выделений из половых путей после задержки менструаций на срок от 14—16 дней до 1,5—6 мес с последующим обильным кровотечением в течение более 7 дней [11].

Диагностика включает в себя сбор анамнеза, включающего не только репродуктивный и семейный анамнез, но и выявление симптомов, указывающих на анемию, патологию надпочечников и гипоталамуса, нарушение функции свёртываемости крови, гипотиреоз, гиперпролактинемия, а также сопутствующих симптомов, к которым могут относиться повышенное артериальное давление, тазовые боли и выделения из влагалища.

Для диагностики анемии и состояния свертывающей системы необходимо провести следующие лабораторные исследования: клинический анализ крови, коагулограмма, включая число тромбоцитов, активированное частичное тромбопластиновое время, время кровотечения и время свертывания, биохимический анализ крови, а также определение уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ) гормона, пролактина, эстрогенов, прогестерона, кортизола, тестостерона, тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4) в сыворотке крови. [11].

Также используется ультразвуковое исследование (УЗИ) для оценки состояния матки и яичников.

Лечение

Выборе метода лечения должен проводиться с учетом интенсивности кровотечения, степени анемии, особенностей физического и полового развития, данных результатов лабораторного исследования, наследственности, а также предполагаемой причины кровотечения [11]. Причиной АМК у большинства подростков является незрелость гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, требующей поддерживающей терапии до момента созревания. Она включает в себя профилактику анемии и психологическое консультирование. [12] В случае гемодинамической нестабильности, требующей госпитализации, лечение должно быть направлено на остановку кровотечения и восстановление овариально-менструального цикла, достигаемых при помощи использования гормональной и негормональной терапии.[12].

Необходимо учитывать частоту рецидивов АМК пубертатного периода в зависимости от способа проводимой терапии: на фоне гормональной терапии частота рецидивов в разы меньше (7,8%), чем при негормональной терапии(28%) [13].

В практике российских гинекологов наиболее часто назначаемыми негормональными препаратами являются викасол (38,2%), дицинон (47,4%) и транексам (77,4%) [15]. В зарубежной практике негормональная терапия включает в себя ингибиторы синтеза простагландинов, уменьшающие кровопотерю до 25-40%. Также используются транексамовая кислота и этамзилат. [12]

Заключение

Таким образом, аномальные маточные кровотечения у подростков могут быть проявлением большого количества как патологий репродуктивной системы, так и гемодинамических нарушений. Это обязывает врача акушера-гинеколога, а также смежных специалистов уметь проводить дифференциальную диагностику и устанавливать истинную причину маточных кровотечений пубертатного периода.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Список литературы

1.Клинические рекомендации. Аномальные маточные кровотечения в пубертатном периоде. Клинические рекомендации. 2021 [Klinicheskierekomendatsii. Anomal'nyematochnyekrovotecheniia v pubertatnomperioode. Klinicheskierekomendatsii. 2021 (inRussian)].

2. Адамьян Л.В., Сибирская Е.В., Колтунова И.Е., Логинова О.Н., Тарбая Н.О., Осипова Г.Т., Пахомова П.И. Аномальные маточные кровотечения пубертатного периода: диагностика и тактика лечения (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2016;22(6):89-97.

3.Уварова Е.В., Сальникова И.А., Хащенко Е.П., Соколова А.П. Ключевые проблемы ведения подростков и молодых женщин с обильным менструальным кровотечением. Гинекология. 2021; 23 (4): 370–376. DOI: 10.26442/20795696.2021.4.201065

4 . Munro MG, Critchley HO, Broder MS, Fraser IS; FIGO Working Group on Menstrual Disorders. FIGO classification system (PALM-COEN) for causes of abnormal uterine bleeding in nongravid women of reproductive age. Int J Gynaecol Obstet. 2011;113:3-13. DOI:10.1016/j.ijgo.2010.11.011

5. Munro MG, Critchley HOD, Fraser IS; FIGO Menstrual Disorders Committee. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018;143:393-408. DOI:10.1002/ijgo.12666
6. Уварова Е.В., Сальникова И.А., Хащенко Е.П., Соколова А.П. Ключевые проблемы ведения подростков и молодых женщин с обильным менструальным кровотечением. *Гинекология.* 2021; 23 (4): 370–376. DOI: 10.26442/20795696.2021.4.201065
7. Jones K, Sung S. Anovulatory Bleeding. In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; June 21, 2022.
8. Zhao Wen, Zeng Qiaoqian, Sun Wen, Wang Yonghong & He Jingwei (2022) Clinical changes of leptin/ghrelin and PAI-1 levels in adolescent girls with abnormal uterine bleeding-ovulatory dysfunction, *Gynecological Endocrinology*, 38:4, 345-349
9. Deligeorgiou, E., & Karountzos, V. (2018). Abnormal Uterine Bleeding including coagulopathies and other menstrual disorders. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 48, 51–61.
10. ACOG Committee Opinion No. 349, November 2006: Menstruation in girls and adolescents: using the menstrual cycle as a vital sign // *Obstet. Gynecol.* 2006. Vol. 108 (5). P. 1323-1328.
11. Адамьян Л.В., Сибирская Е.В., Колтунова И.Е., Логинова О.Н., Тарбая Н.О., Осипова Г.Т., Пахомова П.И. Аномальные маточные кровотечения пубертатного периода: диагностика и тактика лечения (обзор литературы). *Проблемы репродукции.* 2016;22(6):89-97.
12. Sunita Samal, Ashwini Vishalakshi Abnormal uterine bleeding in adolescence international. *Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology* 2018 Apr; 7(4): 1296-1302
13. Доклад Адамьян Л.В., Сибирская Е.В., Короткова С.А., Осипова Г.Т., Пивазян Л.Г., 2020 15. Роговская С.И., Подзолкова Н.М., Короленкова Л.И. и др. Профилактика и лечение гинекологических кровотечений в амбулаторной практике – фокус на аномальные маточные кровотечения и патологию шейки матки // *Эффективная фармакотерапия.* 2020. Т. 16. № 7. С. 30–38.

МУЦИНОЗНЫЕ ЦИСТАДЕНОМЫ, КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ У ДЕВОЧЕК В ПРАКТИКЕ ДЕТСКОГО ГИНЕКОЛОГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Сибирская Е.В.^{1,4}, Караченцова И.В.^{1,2}, Павлова Е.В.², Шарков С.М.^{3,5}, Аргун М.З.¹, Кириллова Ю.А.¹, Меленчук И.А.¹

¹ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 119571, г. Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия;

³ГБУЗ Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы, 119049, г. Москва, Россия;

⁴Кафедра репродуктивной медицины и хирургии ФПДО «Московский государственный медико-стоматологический университет», 127473, г. Москва, Россия;

⁵ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Россия.

Аннотация: В статье представлен анализ литературных данных по проблеме доброкачественной опухоли яичника – муцинознойцистаденоме. Рассмотрена статистика выявления доброкачественных новообразований, клиническая картина возможных осложнений и прогрессирующего роста цистаденомы. Подробно описаны применяемые методы диагностики и лечебная тактика.

Ключевые слова: муцинознаяцистаденома, доброкачественная опухоль яичника, гинекология.

Mucinous cystadenomas, clinic, diagnosis, therapy for girls in the practice of a pediatric gynecologist (review of literature).

Sibirskaya E.V.^{1,4}, Karachentsova I.V.^{1,2}, Pavlova E.V.², Sharkov S.M.^{3,5}, Argun M.Z.¹,

Kirillova Y.A.¹, Melenchuk I.A.¹

¹Russian Children's Clinical Hospital, 119571, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russia;

³Morozovskaya Children's City Hospital, 119049, Moscow, Russia;

⁴The Department of Reproductive Medicine and Surgery of the Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473, Moscow, Russia.

⁵I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia.

Abstract: The article presents an analysis of the literature data on the problem of a benign ovarian tumor – mucinous cystadenoma. The statistics of the detection of benign neoplasms, the clinical picture of possible complications and the progressive growth of cystadenoma are considered. The applied diagnostic methods and therapeutic tactics are described in detail.

Keywords: mucinous cystadenoma, benign ovarian tumor, gynecology.

Муцинозная цистаденома – кистозное новообразование яичника, относящееся к доброкачественным эпителиальным опухолям.[1]. Данное новообразование может выявляться во все периоды жизни (чаще - в постменопаузе) и достигать гигантских размеров, составляя в диаметре 30-50 см.Макроскопическимуцинознаяцистаденома представляет собой солитарное многокамерное образование с толстой фиброзной стенкой, заполненное слизистом содержимым,

представляющим собой муцин, содержащий гликопротеиды и гетерогликаны.[2-3]. Микроскопически киста выстлана однослойным муцинпродуцирующим эпителием, аналогичному эпителию цервикального канала или кишечника.[1].

Эпидемиология

Считается, что у одной из 70 новорожденных девочек в течение жизни возникает опухоль яичника, а одна из 100 – умрет от рака яичников.[4]. По данным различных источников частота выявления доброкачественных опухолей половых органов за последние 10 лет увеличилась с 6-11% до 19-25%, согласно американской базе данных частота новых случаев составляет 11,7:100000 женщин в год. У детей они встречаются реже, чем у взрослых и составляют 1-4,6% случаев. [2,5].

Классификация

Опухоли яичников классифицируются по типу происхождения клеток. Самую большую группу занимают эпителиальные опухоли (примерно 60%). В зависимости от тканевого источника эпителиальные опухоли подразделяются на эндцервикальные (муцинознаяцистаденома), эндометриальные (эндометриоднацистаденома), трубные (серозная цистаденома) и уроэпителиальные (опухоль Бреннера).[4,6]. Среди них на муцинозные новообразования приходится 10%-15%.[7].

Муцинозная цистаденома яичника делится на три типа в соответствии с гистологией: доброкачественные, злокачественные, пограничные. По статистике доброкачественныммуцинознымцистаденомам составляют 80%, пограничные10%, а злокачественные составляют оставшиеся 10%.[8].

Этиология и патогенез

Этиология и патогенез развития опухолей яичника до конца не изучены. Существует несколько теорий развития новообразований яичников:

- 1) Гормональная теория. Согласно данной теории развитию муцинознойцистаденомы предшествует гиперэстрогения, которая вызывает повышенную пролиферацию клеток, что обусловлено чувствительностью ткани яичника к эстрогенам.
- 2) Генетическая теория.
- 3) Вирусная теория. Риск развития муцинозныхцистаденом выше у пациенток, инфицированных вирусом простого герпеса/ВПЧ.

Рассматривая факторы риска опухолей яичника выделяют: ранее менархе, оперативные вмешательства на яичниках, курение, высококалорийную диету с большим содержанием насыщенных жирных кислот и другие.[9].

Клиническая картина

Доброкачественные новообразования яичников не имеют специфических клинических проявлений, что обуславливает их бессимптомное течение. В большинстве случаев развитие яркой клинической картины, обусловлено развитием осложненной или достижением цистаденомы гигантских размеров. Среди возможных осложнений выделяют перекрут ножки яичникового образования или придатков матки, разрыв, кровоизлияние, нагноение, нарушение функции тазовых органов, клиническими проявлениями которых являются симптомы «острого живота». Чаще всего пациенток с данными осложнениями экстренно госпитализируют в стационар с подозрением на аппендицит или иную острую хирургическую патологию.[10].

При достижении муцинознойцистаденомы гигантских размеров возможно появление тянущих болей в нижней части живота и его увеличение в объеме. Также возможно нарушение функции близлежащих органов: мочевого пузыря, прямой кишки, проявляющееся нарушением оттока мочи, акта дефекации и менструального цикла.[11].

Диагностика и дифференциальная диагностика

При выявлении новообразования в малом тазу специалисту необходимо провести дифференциальную диагностику опухоли яичника и опухолей других локализаций, в том числе забрюшинного пространства: кисты брыжейки, кисты большого

сальника, энтерокистомы, опухоли почки, непаразитарные кисты селезенки. Также необходимо дифференцировать муцинознуюцистаденому от серозной цистаденомы, муцинознойцистаденокарциномы, функциональной кисты, перитонеальнойинкклюзионной кисты, эндометриомы, кистозной тератомы, тубоовариального абсцесса и мукоцеле.[1].

Для постановки диагноза применяют следующие методы обследования: сбор анамнеза, физикальное обследование, лабораторные диагностические исследования, инструментальная диагностика.

При сборе анамнеза необходимо обратить особое внимание на возраст пациентки, возраст наступления менархе, присутствие вредных привычек, наличие операционных вмешательств на репродуктивной системе и семейный анамнез (наличие доброкачественных и злокачественных новообразований).

При физикальном обследовании важны: оценка роста, массы тела и ИМТ в сопоставлении с параметрами центильных таблиц возрастных нормативов, определение стадии полового созревания по шкале Таннера с указанием балльной оценки состояния молочных желез (В1-5) и лобкового оволосения (Р1-5). Осмотр наружных половых органов исключает образования и воспалительные заболевания вульвы, устанавливает правильность развития половых органов и их соответствие паспортному возрасту. За счет гинекологического исследования возможно выявление опухоли и ее величины, консистенции, подвижности, расположения по отношению к органам малого таза и характера поверхности опухоли. Пальпация позволяет выявить объемное образование органов брюшной полости или малого таза крупных размеров.

К основному лабораторному исследованию относится определение уровня опухоль-ассоциированных маркеров. Онкомаркеры – специфические белки/антигены, которые появляются у пациента в связи с изменением метаболизма трансформированной клетки и коррелируются с наличием опухоли, злокачественностью, степенью ее распространения и регрессом в результате лечения.

- СА-125 (cancerantigen 125, MUC16)– антиген, ассоциированный с мембранами опухолевых клеток, который является основным для дифференциальной диагностики злокачественных опухолей яичников эпителиального генеза. Стоит помнить о том, что СА-125 не является строго специфичным маркером для опухолей яичника. Его уровень может повышаться при эндометриозе, миоме, циррозе печени, остром панкреатите, а также колебаться в течение менструального цикла.[12].
- β-ХГЧ (хорионический гонадотропин) - маркер, который играет важную роль в диагностике герминогенных опухолей.
- СА-19-9 может использоваться для диагностики метастатических поражений яичника.
- HE-4 - дополнительный маркер эпителиального рака яичников, оценивается в сочетании с СА-125, показал высокую чувствительность в определении рака яичников, даже на ранних стадиях заболевания.
- АФП (альфа-фетопроtein) - патогномоничен для герминогенных опухолей, в частности опухолей желточного мешка;
- ЛДГ (лактатдегидрогеназа) специфический маркер для чистой дисгерминомы.
- Продукты онкогенов (BRCA1 и BRCA2) отражают генетический риск развития некоторых органоспецифических форм рака яичников и молочной железы.[9,12,13].

К инструментальным методам диагностики относят ультразвуковое исследование, компьютерную томографию и магнитно-резонансную томографию органов малого таза. На УЗИ ОМТ визуализируется многокамерное кистозное образование с тонкими перегородками менее 5 мм толщиной, в большинстве случаев одностороннее, папиллярные выросты не характерны. Камеры характеризуются слабыми эхосигналами, что может симулировать наличие солидного компонента и стать причиной диагностической ошибки.

При проведении КТ возможно обнаружение очагов обызвествления в стенке новообразования. Кисты содержат жидкость различной рентгеновской плотности. При проведении МРТ на T1-ВИ содержимое кист обычно дает сигнал низкой интенсивности. Отдельные камеры могут давать сигналы более высокой интенсивности, что характерно при высокой концентрации муцина в кистах или возможном кровоизлиянии. T2-ВИ кисты гиперинтенсивны, наличие тонких перегородок

одинаковой толщины. По результатам инструментального обследования стоит заподозрить злокачественную опухоль, если при осмотре выявляется двустороннее или солидное образование с асцитом.[1,14].

Лечение

Лечение муцинозныхцистаденом исключительно оперативное. Традиционно при доброкачественных опухолях яичников пациенткам репродуктивного возраста проводят органосохраняющую операцию – цистэктомиолапароскопическим доступом, что значительно уменьшает риск развития спаечного процесса, ускоряет реабилитацию и сохраняет репродуктивный потенциал девушки.[4].

Вывод

Анализируя русскоязычную и зарубежную литературу, можно сделать вывод о том, что доброкачественные новообразования яичников являются актуальной проблемой детской гинекологии. Это обусловлено увеличением частоты выявления данной патологии, риском малигнизации и снижением репродуктивного потенциала пациенток. Проведение профосмотров и комплексного УЗИ органов брюшной полости (включая малый таз) в декретированные сроки, позволит обеспечить своевременную диагностику и лечение гинекологических заболеваний, сохраняя репродуктивное и общесоматическое здоровье пациентов.

Литература

1. Акрам М. Шаабан, Кристин О. Мениас, Мариам Рецвани, Марк С. Табэй, РанияФарукэль-Сайед, Паула Дж. Вудворд; пер. с англ.; под ред. А.Н.Сенча Диагностическая визуализация в гинекологии: в 3 т. / – М.: МЕДпресс-информ, 2018. 134 с.
2. Гинекология: учебник / Б. И. Бансова и др.; под ред. Г.М. Савельевой, В. Г. Бреусенко. — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012, с. 292.
3. Бредихина Е.В., Борсук А.Д., Бредихин Е.М., Тихманович Е.Е. Муцинознаяцистаденома хвоста поджелудочной железы. Клинический случай // Медицинские новости. 2016. №4 (259).
4. Гинекология: учебник / под ред. В. Е. Радзинского. – Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2020, с. 285.
5. Калашникова М.Ф., Лиходей Н.В., Тюльпаков А.Н., Федорова Е.В., Брюнин Д.В., Бахвалова А.А., Глушакова М.А., Смирнова С.А., Фадеев В.В. Вирилизующая опухоль яичника: проблемы дифференциальной диагностики. *Проблемы эндокринологии* 2019. Т. 65 №4. с. 273–277
9. Основные вопросы онкологигинекологии: учебник / под ред. Е. Ф. Кира, С. П. Синчихина, Л. В. Степаняна, О. Б. Мамиева. - Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2018, с. 193 - 213.
10. Коршикова Р.Л., Харкевич О.Н., Секержицкая Л.А., Бегун И.В.,Ващилина Т.П., Асадова Т.О. Особенности диагностики опухолей яичников у девочек от 0 до 18 лет. ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя». Сб.науч. трудов и материалов респуб. научно-практич. конф. «Современные перинатальные медицинские технологии в решении проблем демографической безопасности», 2010 г. С. 32-36.
11. Сибирская Е.В., Адамян Л.В., Яцык С.П., Гераськина С.Г. Абдоминальный болевойсиндромудевочкиприопухоляхиопухолевидныхобразованияхпридатковматки. *Российскийпедиатрическийжурнал*. 2015; 18 (3): 54–59.
12. Мартынов С.А., Современные онкомаркеры в дифференциальной диагностике опухолей яичников вне и во время беременности (обзор литературы). *Гинекология*. 2014, 16(4), 63-67.
13. Егунова Мария Алексеевна, Куценко Ирина Георгиевна Дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных новообразований яичников (история вопроса) // *Ж. акуш. и жен. болезн.*. 2016. №6.

АБДОМИНАЛЬНЫЙ БОЛЕВОЙ СИНДРОМ У ДЕВОЧЕК С ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Адамян Л.В.¹ Сибирская Е.В.^{1,2,3}, Торубаров С.Ф.⁴ Сысоева И.В.⁴ Папаян Л.Г.⁴ Бдоян В.В.⁴ Бурханская Е.Д.⁴ Волкова Е.А.⁴

1. ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

2. Кафедра репродуктивной медицины и хирургии ФПДО МГМСУ им А.И.Евдокимова, Москва, Российская Федерация

3. Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И.Пирогова Минздрава России. Гинекологическое отделение.

4. ГБУЗ «Долгопрудненская центральная городская больница». Центр репродуктивного здоровья детей и подростков Московской области.

РЕЗЮМЕ

Врожденные пороки развития половых органов - морфологические изменения органа, выходящие за пределы вариаций их строения. Актуальность проблемы определяется сложностью диагностики, что приводит к несвоевременному лечению и осложнениям. [7] Раннее выявление пороков развития у подростков, квалифицированная медицинская помощь помогут сохранить репродуктивное здоровье пациенток с данной патологией. К сожалению, часто аномалии репродуктивной системы выявляются врачами гинекологами только при дебюте дисменореи или острого живота, которые проявляются скоплением крови в полости матки (гематометра), шейки (гематоцервикс) и влагалища (гематокольпос). [8-9]. Различные формы пороков развития матки и влагалища зависят в частности от патологического влияния тератогенных факторов или наследственной предрасположенности в процессе эмбриогенеза.[9] К группе риска по рождению девочек с пороками развития половых органов относятся женщины, имеющие профессиональные вредности и вредные привычки - курение, алкоголизм, перенесшие вирусные инфекции от 8 до 16 недель беременности [8-9].

Происхождение различных форм пороков развития матки и влагалища зависит от действия тератогенного фактора, наследственного фактора и немаловажную роль играет этап формирования эмбриогенеза. Анализ данных литературы показывает, что вопросы морфогенеза матки и влагалища, а также происхождение аномалий развития данных органов изучены недостаточно и есть необходимость в дальнейшем накоплении фактического материала полученных данных [3-9]

В данной статье мы рассмотрим особенности ведения пациенток, диагностики и лечения девочек и девушек – подростков с абдоминальным синдромом, связанных с пороками развития половых органов и нарушением оттока менструальной.

Ключевые слова: пороки развития половых органов, нарушение оттока менструальной крови, репродуктивное здоровье девочек и девушек.

Abdominal pain syndrome in girls with malformations of the genitals. Literature review.

Adamyant L.V.¹ Sibirskaya E.V.^{1,2,3}, Torubarov S.F.⁴ Sysoeva I.V.⁴ Papyan L.G.⁴ Bdoyan V.V.⁴ Burganskaya E.D.⁴ Volkova E.A.⁴

1. Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia

2. Department of Reproductive Medicine and Surgery of the Moscow State Medical University named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation

3. Russian Children's Clinical Hospital of the Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health of Russia. Gynecological department.

4. GBUZ "Dolgoprudnenskaya Central city hospital". Center for Reproductive Health of Children and Adolescents of the Moscow region

SUMMARY

Congenital malformations of the genitals - morphological changes of the organ that go beyond the variations of their structure. The urgency of the problem is determined by the complexity of the diagnosis, which leads to untimely treatment and complications. [7] Early detection of malformations in adolescents, qualified medical care will help to preserve the reproductive health of patients with this pathology. Unfortunately, often anomalies of the reproductive system are detected by gynecologists only at the onset of dysmenorrhea or acute abdomen, which are manifested by the accumulation of blood in the uterine cavity (hematometer), cervix (hematocervix) and vagina (hematocolpos) [8-9]. Various forms of malformations of the uterus and vagina depend in particular on the pathological influence of teratogenic factors or hereditary predisposition in the process of embryogenesis. [9] The risk group for the birth of girls with genital malformations includes women who have occupational hazards and bad habits - smoking, alcoholism, who have had viral infections from 8 to 16 weeks of pregnancy [8-9].

The origin of various forms of malformations of the uterus and vagina depends on the action of teratogenic factor, hereditary factor and the stage of formation of embryogenesis plays an important role. Analysis of the literature data shows that the issues of morphogenesis of the uterus and vagina, as well as the origin of anomalies in the development of these organs have not been studied enough and there is a need for further accumulation of the actual material of the data obtained. [3-9].

In this article, we will consider the features of patient management, diagnosis and treatment of adolescent girls and girls with abdominal syndrome associated with malformations of the genital organs and menstrual outflow disorders.

Key words: malformations of the genital organs, violation of the outflow of menstrual blood, reproductive health of girls and women.

Актуальность.

В связи с ростом частоты пороков развития различных органов и систем, в том числе аномалий развития женских половых органов, за последнее время обретает все большую актуальность. Врожденные пороки развития женских половых органов составляют около 14% всех врожденных аномалий развития. Частота аномалий развития влагалища и матки составляет 1 случай на 300 новорожденных девочек. У каждой 4000-5000-й новорожденной наблюдается аплазия матки и влагалища. [8], [10]

Анализируя данные исследований, можно сделать вывод, что в структуре пороков развития влагалища с нарушением оттока менструального отделяемого преобладала частичная аплазия влагалища - у 39,5% девочек, удвоения матки и влагалища выявляются у 20,8%, атрезия девственной плевы - у 29%, рудиментарный рог матки - у 6,2% девочек. [8]

Немаловажную роль играет раннее выявление, вовремя оказанная квалифицированная медицинская помощь девочкам с пороками развития половых органов, так как ранняя диагностика позволяет сохранить репродуктивное здоровье пациенток с данной патологией [2-3].

Наиболее часто обращаются к врачу гинекологу девочки в возрасте 11 – 16 лет, когда наступает период становления менструальных функций, с жалобами на отсутствие менструации и/или болями внизу живота.

При полной аплазии влагалища и матки пациентки обращаются с жалобами на отсутствие менструации (первичная аменорея). При осмотре наружных половых органов выявляется отсутствие входа во влагалище, а при ректоабдоминальном исследовании в проекции матки пальпирует плотный тяж.

При аплазии шейки матки и при функционирующей матке девочки – подростки часто жалуются на отсутствие менструации, болевой синдром внизу живота, которые повторяются раз в месяц, без положительного эффекта от применения анальгетиков и спазмолитиков, часто беспокоят тошнота и рвота, учащенное и болезненное мочеиспускание, затрудненный акт дефекации и увеличение живота в размерах. Данные симптомы возникают за счет формирования гематокольпоса, из – за нарушения оттока менструальной крови(ложная аменорея) и заброса менструальной крови по трубам в брюшную полость. При высоком уровне аплазии влагалища, может формироваться гематометра и гематосальпинкс. При ректоабдоминальном исследовании в малом тазу определяется шаровидной формы, плотное, подвижное, болезненное образование. Большинство пороков развития половой системы связано непосредственно с нарушением оттока менструальной крови, в связи с этим ретроградный рефлюкс менструальной крови из маточных труб в брюшную полость нередко сопровождается проявлением эндометриоза у девочек – подростков.

При частичной аплазии влагалища при функционирующей матке

Болюную при достижении возраста менархе начинают беспокоить тянущие, распирающие боли внизу живота, может появляться учащенное мочеиспускание. При проведении ректального исследования:

- При аплазии в верхней трети влагалища – пальпируется слегка увеличенная и болезненная матка грушевидной формы.

-При аплазии в средней трети влагалища – определяется неподвижное, эластичное образование, вытянутой формы, матка в данной ситуации как правило не пальпируется.

- При аплазии нижней части влагалища проекции влагалища – определяется вытянутой формы, неподвижное, плотно-эластичное образование, которое может иметь гигантские размеры и пальпироваться через переднюю брюшную стенку.

При сочетании удвоения матки, шейки и влагалища, и полной аплазии матки и влагалища диагностика этих пороков усложняется, поскольку у девочек менархе наступает вовремя и менструальный цикл, как правило, не нарушен. Спустя некоторое время после менархе у больных появляются боли внизу живота во время менструаций, которые усиливаются с каждой последующей менструацией и не купируются приемом анальгетиков и спазмолитиков. При гинекологическом осмотре эту патологию выявить крайне затруднительно.

У девочек и девушек при атрезии гимена периодически возникают тянущие и схваткообразные боли внизу живота, слабость и головокружение, обусловленные скоплением крови во влагалище, матке, маточных трубах и малом тазу. [8]

Диагностика при пороках развития половых органов у девочек и девушек должна включать в себя:

- 1) Сбор гинекологического осмотра
- 2) Бимануальное и ректоабдоминальное исследование
- 3) УЗИ органов малого таза
- 4)МРТ - позволяет оценить анатомо-топографические особенности и определить оптимальную лечебную тактику.[14]
- 5) Диагностическая лапароскопия - позволяет выявить и детально описать особенности топографии органов мочеполовой системы, включая сочетанные и комбинированные пороки матки и влагалища. [2]

Также, очень важно проводить тщательную и адекватную дифференциальную диагностику, так как девочкам с симптомом «острого живота» при аплазии влагалища (частичной или полной) и функционирующей матке, часто ставят неправильный диагноз (острый аппендицит) и выполняют неадекватные хирургические вмешательства (аппендэктомия,

диагностическую лапаротомию или лапароскопию, удаление или резекцию придатков матки, ошибочное и вредоносное рассечение кажущейся «атрезированной» девственной плевы и т.д.) [9] [14]

Лечение

При лечении атрезии девственной плевы используют:

- циркулярное иссечение девственной плевы с обшиванием краев ;

- гименотомию — рассечение аномальной девственной плевы в виде крестообразного разреза с последующим выпусканьем накопленной крови и её сгустков.[13]

Существуют различные методики вагинопластики, что свидетельствует об отсутствии оптимального метода восстановления проходимости влагалища. [16]

Оптимальным способом коррекции неполной аплазии влагалища при функционирующей матке считают проведение вагинопластики методом скользящих лоскутов.[14]

Искусственное влагалище создают с помощью кожно-пластических лоскутов кишечных методов, подшивая их к функционирующей матке. [17], [18]

Л.В. Адамян была предложена методика создания неовлагалища методом перитонеальнокольпопоза, при котором значительно уменьшается частота возникновения таких осложнений, как хронический эндометрит, пиосальпинкс, стенозирование соустья, выпадение стенок неовлагалища.[10]

При полной аплазии влагалища и функционирующей матке, учитывая невозможность воссоздания аплазированной цервикального канала, операциями выбора являются тотальная лапароскопическая экстирпация и кольпопоз из тазовой брюшины. [14], [2] [17]

При удвоении матки и влагалища с частичной аплазией одного влагалища операция проводится в два этапа. Во время первого этапа (влагалищного) производится рассечение стенок влагалища с дальнейшим формированием сообщения между функционирующей и замкнутой полостями, вскрытие и дренирование гематокольпоса, санация влагалища. На втором этапе (лапароскопическом) оценивается взаиморасположение маток, осуществляется опорожнение гематометры и гематосальпинкса и санация брюшной полости.[13]

При рудиментарном роге матки: лапароскопическое удаление рудиментарного рога матки.[9-11]

Заключение:

Выявление порока развития у девочки в любом возрасте требует обязательного осмотра гинекологом детского и подросткового возраста, поэтому так важно регулярно посещать гинеколога для профилактического осмотра уже с первых дней жизни и, тем самым, своевременно выявить порок развития половых органов, провести своевременную диагностику и выбрать оптимальную тактику лечения, выявив анатомическую особенность порока. [2][9]

Список литературы

1. Крутова В.А., Наумова Н.В., Котлова Т.А., Тулендинова А.И., Асланян И.Э. Алгоритм диагностики и лечения девочек с врожденными пороками развития органов репродуктивной системы./Репродуктивное здоровье детей и подростков. Год. 2017. № 1. С. 30-36.
2. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Богданова Е.А., Колтунов И.Е., Смаль Т.А. Репродуктивное здоровье девочек и девушек г. Москвы.Предложения по сохранению репродуктивного потенциала./Репродуктивное здоровье детей и подростков/№2 стр. 13-14/2016

3. Баран Н.М., Богданова Е.А. Трудности диагностики пороков развития внутренних половых органов у девочек. // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. Год 2018. № 1. С. 35-42.
4. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Тарбая Н.О. Проблема эндометриоза у девочек-подростков (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2016;22(3):71-76.
5. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Хашукоева А.З. Пороки развития матки и влагалища – М.: Медицина, 1998. – 320с
6. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Колтунова И.Е., Логинова О.Н., Тарбая Н.О., Осипова Г.Т., Пахомова П.И. Аномальные маточные кровотечения пубертатного периода: диагностика и тактика лечения (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2016;22(6):89-97.
7. Friedman MA, Aguilar L, Heyward Q, et al. Screening for mullerian anomalies in patients with unilateral renal agenesis: leveraging early detection to prevent complications. *J Pediatr Urol*. 2018;14(2):144-149. doi: 10.1016/j.jpuro.2018.01.011.
8. Taiwan J Obstet Gynecol. Diagnosis and treatment of müllerian malformations. *Passos IMPE, Britto RL*. 2020 Mar;59(2):183-188. doi: 10.1016/j.tjog.2020.01.003.
9. З.К Батырова, Е.В. Уварова, З.Х Кумыкова, В.Д. Чупрынин, Д.А. Кругляк Аномалии развития половых органов с нарушением оттока менструальной крови: диагностика, лечение и профилактика осложнений. *Обзор литературы. // Педиатрическая фармакология*. Том: 16 Номер: 6 Год: 2019 Страницы: 349-352
10. Л.В. Адамян, Е.В. Сибирская, К.Н. Арсланян, С.А. Журавлева, Т.А. Смаль. Патология развития матки и влагалища у девочек и девушек с нарушением оттока менструальной крови. // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. Номер: 2 Год: 2016 Страницы: 15-16
11. Brännström M, DahmKähler P, Greite R, Mölne J, Diaz-Garcia C, Tullius SG. UterusTransplantation: A RapidlyExpandingField. 2018 Apr;102(4):569-577. doi: 10.1097/TP.0000000000002035.
12. Баран Н.М., Адамян Л.В., Богданова Е.А., Глыбина Т.М. Клиника, диагностика и лечение атрезии девственной плевы у девочек. *Акушерствои гинекология*. 2017. № 2. С. 86-90.
13. Creatsas G, Deligeorglou E. Vaginal aplasia and reconstruction. *BestPract Res Clin ObstetGynaecol*. 2010 Apr;24(2):185-91. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2009.11.002. Epub 2019 Jan 20.
14. Л.В. Адамян, В.О. Панов, З.Н. Макиян, Е.А. Кулабухова, М.М. Панова, Г.А. Сташук, А.А. Степанян. Магнитно-резонансная томография в дифференциальной диагностике аномалий матки и влагалища: алгоритм исследования и МРТ-семиотика. // *Медицинская визуализация*. 2016. № 6. С. 100-113.
15. Buncamper M, van der Sluis W, van der Pas R, et al. Surgical outcomes after penile inversion vaginoplasty: a retrospective study of 475 transgender women. *PlasticReconstrSurg*. 2016;138(5):999-1007. doi: 10.1097/PRS.0000000000002684.
16. Воскресенский С.Л., Кошельков Я.Я., Кадырко С.М. Пластика свободным кожным лоскутом при аплазии влагалища: современный подход и эффективность. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2018. Т. 15. № 1. С. 62.
17. El Saman AM, Farag MA, Shazly SA, Noor M, Ali MK, Othman ER, Khalifa M, Farghly TA, El Saman DA. Dual-Force Vaginoplasty for Treatment of Segmental Vaginal Aplasia. *Obstet Gynecol*. 2017 May;129(5):854-859. doi: 10.1097/AOG.0000000000001974.
18. Bouman MB, van Zeijl MC, Buncamper ME, et al. Intestinal vaginoplasty revisited: a review of surgical techniques. *J Sex Med*. 2019;11(7):1835-1847. doi: 10.1111/jsm.12538.

АНЕСТЕЗИЯ И СПОСОБ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ОБЕЗБОЛИВАНИЯ У ПАЦИЕНТА С ЮВЕНИЛЬНОЙ АНГИОФИБРОМОЙ НОСОГЛОТКИ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Коробова Л.С.¹, Матинян Н.В.^{1, 2}, Лазарев В.В.², Цинцадзе А.А.¹, Меркулов О.А.¹

Королев В.А.¹, Балашова Л.М.²

¹НИИ Детской онкологии и гематологии. ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава РФ (ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ); Российская Федерация, 115478 Москва, Каширское шоссе 24, телефон +7 (499) 324 42 76.

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация; РФ, 117997, г. Москва, улица Островитянова дом 1.

Аннотация

Согласно, мировой статистики около 1-5% из всех злокачественных опухолей локализуется в полости носа и носоглотки. Эндоскопический метод хирургического вмешательства в онкохирургии носоглотки считается малотравматичным, а сочетанная анестезия с применением регионарных методов анестезии, повышает качество выполняемой операции, обеспечивая эффективность и безопасность хирургического вмешательства. С целью оптимизации анестезиологического обеспечения при эндоскопическом методе хирургического вмешательства в онкохирургии носоглотки, нами предлагается метод сочетанной анестезии с применением двухсторонней крылонебной анестезии (КНА) небным доступом (или палатинальной), позволяющий создать гарантированную периоперационную анальгезию. Для снижения болевого синдрома и уменьшения проявлений дискомфорта и рефлекторных реакций от стояния носового тампона Merocel, нами предлагается выполнять инфильтрационную анестезию носа из трех точек по Вайсблату сразу после хирургического вмешательства.

Описание случая

Пациенту, которому была проведено плановое эндоскопическое хирургическое вмешательство по поводу ювенильной ангиофибромы носоглотки, крылонебной ямки и подвисочной ямки слева, была использована сочетанная анестезия с применением регионарных методов обезболивания. С целью послеоперационного обезболивания выполнена инфильтрационная анестезия из трех точек по Вайсблату.

Обсуждение

Этот случай наглядно иллюстрирует эффективность и безопасность предлагаемого варианта сочетанной анестезии с использованием регионарной анестезии при эндоскопическом хирургическом вмешательстве в онкохирургии носоглотки у детей, позволяя отказаться от применения опиоидных анальгетиков. А применение регионарной блокады носа из трех точек по Вайсблату целью послеоперационного обезболивания, позволяет в полной мере помочь пациентам нивелировать неудобства, доставляемые носовым тампоном (боль, ощущение инородного тела), и отказаться от дополнительного обезболивания.

Ключевые слова: онкохирургия носоглотки, сочетанная анестезия, послеоперационное обезболивание.

Anesthesia and method of postoperative anesthesia in patients with juvenile nasopharyngeal angiofibroma (clinical case).

L. S. Korobova¹, N. V. Matinyan^{1, 2}, V. V. Lasarev², A. A. Tsintsadze¹, O. A. Merkulov¹, V. A. Korolev¹, L. M. Balashova²

¹National medical research center of Oncology. N.N. Blokhin, Ministry of health of Russia, Moscow, Russian Federation; Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway 24, for phone +7 (499) 324 42 76.

²NATIONAL IN "Russian national research medical University. N. And. Pirogov" of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russian Federation; Russian Federation, 117997, Moscow, Ostrovityanova street building 1.

Annotation

According to world statistics, about 1-5% of all malignant tumors are localized in the nasal cavity and rhinopharynx. The endoscopic method of surgical intervention in rhinopharyngeal oncosurgery is considered to be low-traumatic, and combined anesthesia with the use of regional anesthesia methods improves the quality of the operation performed, ensuring the effectiveness and safety of surgical intervention. In order to optimize the anesthetic support for the endoscopic method of surgical intervention in rhinopharyngeal oncosurgery, we propose a method of combined anesthesia with the use of bilateral cranial anesthesia with palatine access (or palatine), which allows to create a guaranteed perioperative analgesia. To reduce the pain syndrome and reduce the manifestations of discomfort and reflex reactions from standing with a Merocel nasal tampon, we propose to perform infiltration anesthesia of the nose from three points according to Weissblatt immediately after surgery.

Case Description

A patient who underwent planned endoscopic surgery for juvenile angiofibroma of the nasopharynx, the pterygoid fossa and the left fossa was given combined anesthesia using regional anesthesia methods. For the purpose of postoperative anesthesia, infiltration anesthesia was performed from three points according to Weissblatt.

Discussion

This case clearly illustrates the effectiveness and safety of the proposed variant of combined anesthesia with the use of regional anesthesia during endoscopic surgical intervention in nasopharyngeal oncosurgery in children, allowing to abandon the use of opioid analgesics. And the use of a regional blockade of the nose from three points according to Weissblatt for the purpose of postoperative anesthesia, allows you to fully help patients to level the inconveniences caused by a nasal swab (pain, foreign body sensation), and to refuse additional anesthesia.

Keywords: nasopharyngeal oncosurgery, combined anesthesia, postoperative anesthesia.

Введение

Согласно, мировой статистики около 1-5% из всех злокачественных опухолей локализуется в полости носа и носоротоглотки. Согласно данным НИИ ДО и Г им. Н.Н. Блохина, 40% приходится на опухоли носа и околоносовых пазух, 25% - это опухоли ротоглотки, 20% составляют опухоли ротоглотки. Эндоскопический метод при оперативных вмешательствах по поводу опухолей носоротоглотки имеет существенные особенности, обусловленные значительной васкуляризацией рефлексогенностью оперируемой зоны, а также существенное значение имеет объем опухоли, поражение лимфатических сосудов [1,2]. Этот вариант хирургического вмешательства является малотравматичным, а сочетанная анестезия с использованием регионарных методов анестезии, повышает качество выполняемой операции.

Тем не менее, выбор метода анестезиологического обеспечения детей остается спорным ввиду высокого анестезиологического риска, обусловленного анатомофизиологическими особенностями строения верхних дыхательных путей, наличием рефлексогенной зоны (Ganglionseptinasi), а главное, близкое соседство с полостью черепа и сосудами шеи. Выраженная рефлексогенность данной зоны повышает вероятность рефлекторного нарушения работы сердца, поскольку стимулирование зон, иннервируемых тройничным нервом и его ветвями, повышают опасность формирования тригеминокардиального рефлекса [3,4, 5]. Стимуляция этой зоны может провоцировать развитииоцигенных и вегетативных реакций, не только интраоперационно, но и в послеоперационном периоде, особенно в первые сутки из-за разбухания тампона Мероселля носа [7, 8]. Любое воздействие на эту зону вмешательства протекают по типу ринокардиального и ринобронхиального рефлексов, выражающееся в виде головной боли, артериальной гипертензии и бронхоспазма [9-14]. Сочетанная анестезия может значительно повысить безопасность и качество при оперативных вмешательствах по поводу опухолей носоротоглотки у детей.

В свою очередь надежность эндоскопического метода складывается из адекватного интраоперационного обезболивания с достаточным гемостазом, удовлетворительной вазодилатацией, умеренным кровотечением в условиях управляемой гипотонии, со стабильной гемодинамической картиной [5,6]. Таким образом, главной задачей анестезиолога при оперативных вмешательствах по поводу опухолей носоротоглотки, является предупреждение предрасполагающих факторов риска

развития тригеминокардиального рефлекса. Не исключено, что именно регионарная блокада крылонебного ганглия является одним из единственных эффективных методов предотвращения жизнеугрожающего рефлекса [5].

Бородулин В.Г. в автореферате к диссертации «Применение блокады крылонебного ганглия в хирургическом лечении патологии полости носа» представил значимые корреляции между кровоточностью операционного поля и интенсивностью послеоперационного болевого синдрома [16]. Создавая комфортные условия для работы хирурга, главным образом уменьшая кровоточивость в зоне оперативного вмешательства, создается вероятность значительно снизить интенсивность послеоперационной боли.

Рассмотрев рекомендацию E. Kesimci и соавт. (2012) по применению двусторонней блокады крылонебного ганглия, появляется возможность снизить потребность в послеоперационном обезболивании в первые сутки после эндоскопических операций по поводу опухолей носороотоглотки [3, 15, 17].

Оптимизировать анестезиологическое обеспечение при оперативных вмешательствах по поводу опухолей носороотоглотки эндоскопическим методом можно способом сочетанной анестезии с применением двухсторонней крылонебной анестезии небным доступом (или палатинальной), который позволит создать гарантированную периоперационную анальгезию, а главное снизить риски кровотечения. Уменьшение интенсивности послеоперационной боли является результатом минимизации кровотечения. Выраженность болевого синдрома после хирургического вмешательства по поводу опухолей носороотоглотки также связана с разбуханием носового тампона Merocel и, как результат - рефлексогенные реакции. Соответственно, для уменьшения выраженного дискомфорта от стояния нового тампона, для снижения болевой реакции, для нивелирования риска рефлексогенных реакций, нами предлагается выполнять инфильтрационную анестезию носа из трех точек по Вайсблату сразу после оперативного вмешательства [18].

Описание случая

В конце июля 2021 года в НИИ ДО и Г им. Н.Н. Блохина было проведено эндоназальное онкохирургическое вмешательство, пациенту В. 15 лет, весом 65 кг по поводу ювенильной ангиофибромы носоглотки, крылонебной ямки и подвисочной ямки слева. При осмотре обращало на себя внимание полное отсутствие носового дыхания слева. При передней риноскопии выявлялась опухолевая ткань, которая obturировала левый носовой ход в средних его отделах. Лимфатические узлы шеи не увеличены. По данным компьютерной томографии лицевого скелета с внутривенным контрастированием, получена РКТ картина, соответствующая фиброзной дисплазии клиновидной кости. Проведенное КТ исследование головного мозга с внутривенным контрастированием, показало отсутствие патологических изменений в головном мозге. По данным МРТ в области подвисочной ямки слева имеется опухолевидное образование, распространяющиеся на задние отделы носовых ходов, носоглотку, левую верхнечелюстную пазуху, задние отделы ячеек решетчатого лабиринта (рис. 1).

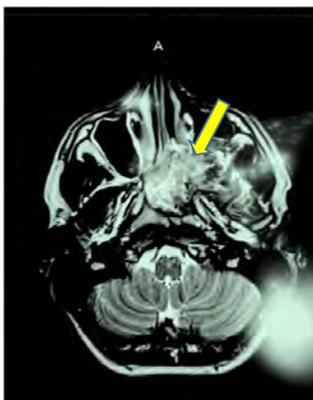


Рис.1. МРТ картина области подвисочной ямки слева (ангиофиброма носоглотки, крылонебной ямки и подвисочной ямки слева)

Fig.1. MRI picture of the region of the sub-temporal fossa on the left (angiofibroma of the nasopharynx, pterygoid fossa and the sub-temporal fossa on the left)

Операция проходила в два этапа: 1-ый этап- эмболизация сосудов, кровоснабжающих опухоль в условиях отделения рентгеноангиографии; 2-ой этап: удаление опухоли в условиях операционной. Премедикация перед анестезией не проводилась. Ребенок был адекватен, легко вступал в контакт, спокоен. До индукции анестезии был обеспечен венозный периферический доступ, затем пунктирована и катетеризирована подключичная вена. Вводная анестезия проводилась внутривенным анестетиком (раствор пропофола 1% из расчета 2 мг/кг).

Стандартная методика эндотрахеальной анестезии. Согласно существующему протоколу в институте, перед интубацией трахеи внутривенно были введены: глюкокортикостероид (раствор дексаметазона 0,4% из расчета 0,15 мг/кг), наркотический анальгетик (раствор фентанила 0,005% из расчета 2 мкг/кг) и недеполяризующий миорелаксант (раствор рокурония бромида 1% из расчета 0,6 мг/кг).

Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) проводили с использованием наркозно-дыхательного аппарата Primus (Dräger, Германия) в режиме управления по давлению — PCV с потоком свежего газа 2 л/мин (Lowflow anaesthesia). Поддержание анестезии: ингаляция севофлурана в потоке 2 л/мин газовой смеси O₂-Air = 1:1 с целевым значением минимальной альвеолярной концентрации анестетика (МАК) - 1,0. Проводилась упреждающая аналгезия до начала операции раствором парацетамола из расчета 15 мг/кг.

На 1-ом этапе нами были определены границы опухоли, и объем ее васкуляризации. Учитывая, что небная артерия была эмболизирована, снижался риск ее травматизации при выполнении палатинальной анестезии (отсутствие проникновения в небный канал т.е. местный анестетик выпускается сразу в области большого небного отверстия) (рис.2). При этом палатинальная анестезия выполнялась с обеих сторон раствором ропивакаина 0,75% из расчета V (мл) = возраст в годах/10. Суммарная доза ропивакаина не превышала максимально допустимую дозу для регионарных блокад.



Рис.2. Палатинальная анестезия (небный доступ к крылонебной ямке)

Fig.2. Palatinal anesthesia (palatine access to the pterygoid fossa)

С профилактической целью перед операцией внутривенно вводились гемостатические препараты антибиотики.

Длительность анестезии составила 430 минут, время эмболизации сосудов опухоли – 40 минут, длительность оперативного вмешательства - 260 минут.

Гемодинамическая картина походу анестезии стабильная (рис.3). При поступлении в операционную показатели гемодинамики соответствовали исходным данным в палате. Начиная с этапа индукции, далее по ходу интубации трахеи, и при эмболизации сосудов опухоли отмечалось снижение показателей артериального давления систолического и диастолического, пульса (ADS, ADD, PS), что связано с особенностями фармакокинетики севофлурана и пропофола, обуславливающие более длительное остаточное депрессивное влияние анестетика и гипнотика на сердечно-сосудистую систему, и продолжающееся до этапа транспортировки пациента из отделения рентгеноангиографии после эмболизации сосудов опухоли. При этом на всех этапах наблюдения отклонений от возрастных нормативов параметров гемодинамики не отмечено.

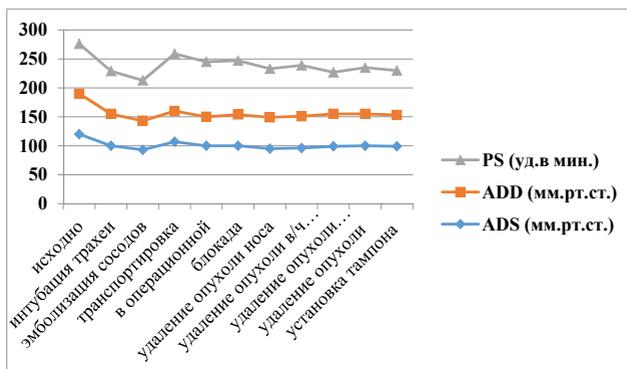


Рис.3. Динамика показателей ASD, ADD, PS
Fig.3. Dynamics of ASD, ADD, PS indicators

Ребенку было проведено комбинированное удаление ангиофибры носоглотки, крылонебной и подвисочной ямки. После определения границ распространения опухоли, произведено удаление носовой порции образования с обеспечением гемостаза. Лоцировано место выхода ангиофибры из крылонебного отверстия, с последующим выделением ангиофибры через заднюю стенку верхнечелюстной пазухи, и удалением основной порции ангиофибры в области крылонебной и подчелюстной ямок с обязательным гемостазом. Завершающим этапом было трансназальное удаление остаточной опухоли. Для обеспечения гемостаза, хирургами использовался гемостатический порошок «Сужисел», а также произведена тампонада с помощью тампона «Меросель», выполнена переднепетлевая тампонада полости носа.

С целью снизить болезненное влияние тампонады носа как локально, так и на весь организм в целом, было принято решение воспользоваться инфильтрационной анестезией носа из трех точек по Вайсблату, которую выполняли перед экстубацией трахеи.

Техника выполнения инфильтрационной анестезии носа: одна точка укола находится на переносице, откуда игла продвигается с обеих сторон носа косо сверху вниз - изнутри наружу (в медиально-дистальном направлении); две другие точки находятся по обеим сторонам носа на уровне нижней его границы, откуда сначала продвигают иглу в направленииснизу вверх,порционно выпуская местный анестетик, а затем, не вынимая иглы из тканей, направляют ее снаружи внутрь параллельно границе носа (рис.4-5).



Рис.4. Инфильтрационная анестезия носа по Вайсблату (переносица).
Fig.4. Infiltration anesthesia of the nose by Weissblatt (bridge of the nose).



Рис.5 Инфильтрационная анестезия носа по Вайсблату (топка слева у нижней границы носа).

Fig.5. Infiltration anesthesia of the nose by Weissblatt (longing on the left at the lower border of the nose).

Местный анестетик - раствор ропивакаина 0,75% из расчета V (мл) = возраст в годах/5, распределенный на три точки.

Перед транспортировкой в отделение реанимации, для нивелирования признаков посленаркозной дрожи, которая появлялась у пациента при пробуждении, было принято решение о внутримышечном введении ненаркотического анальгезирующего вещества центрального действия - раствора нефопама гидрохлорида – 20 мг. Через 20 минут озноб купирован.

За время операции объем кровопотери составил 500,0 мл. Удаленное новообразование гистологически имело доброкачественный характер. В отделении реанимации в послеоперационном периоде пациент жалоб на головную боль, тошноту и рвоту, ощущение инородного тела в носу не предъявлял, по визуальной аналоговой шкале боли – ВАШ (VisualAnalogScale) оценивал свою боль в 0 баллов в течении 16 часов наблюдения, из обезболивающих препаратов получил раствор парацетамола внутривенно из расчета 15 мг на кг.

Обсуждение. Мы предполагаем, что именно сочетанная анестезия с применением регионарных методов анестезии при эндоскопическом методе хирургического вмешательства в онкохирургии носоглотки нивелирует риск развития рефлекторных реакций, позволяет применять невысокие дозы ингаляционного анестетика севофлурана (МАК-1,0), минимизировать использование наркотических анальгетиков, применяя их лишь на интубацию трахеи, добиться стабильной гемодинамической картины. При этом надо учитывать объем опухоли, и достаточность эмболизации сосудов, кровоснабжающих ее. Только в этом случае исключается риск кровотечения при выполнении палатинальной анестезии. Новизна состоит в том, что использование инфильтрационной анестезии носа из трех точек по Вайсблату позволяет отказаться от применения наркотических анальгетиков в послеоперационном периоде, создать комфортные условия, благодаря достаточной анемизации носа, ликвидируя дискомфорт, создаваемый тампонадой с помощью тампона «Меросель» и переднепетлевой тампонады полости носа.

Заключение. Таким образом, можно сделать основной вывод, что был получен положительный опыт применения сочетанной анестезии с использованием регионарных методов обезболивания при эндоскопическом методе хирургического вмешательства в онкохирургии носоглотки высоким уровнем обезболивания не только интраоперационного, но и послеоперационного периодов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор, ответственный за переписку: Коробова Людмила Сергеевна, кандидат медицинских наук; адрес: 115478 Москва, Каширское шоссе 24, телефон: +7 (499) 324 42 76; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3047-412X>; eLibrary SPIN: 6197-8273; e-mail: Lydmil@bk.ru

Список литературы

1. Виганд М.Э., Иро Х. Эндоскопическая хирургия околоносовых пазух и переднего отдела основания черепа. Пер. с англ. Кочкина Р.В., Кузьменко Е.В., Кутько А.П., Мартовой Е.В. М.: Медицинская литература; 2014.

2. Мартынов Л.А., Сотников А.В., Меркулов О.А., Матинян Н.В., Булетов Д.А. Анестезиологическое обеспечение эндоскопических эндоназальных операций в детской онкологии. *Онкопедиатрия*. 2017;4(3):204-213. <https://doi.org/10.15690/onco.v4i3.1752>
3. Singh GP, Chowdhury T. Brain and heart connections: The trigeminocardiac reflex! *Journal of Neuroanaesthesiology and Critical Care*. 2017;4:717. <https://doi.org/10.4103/inacc-jnacc-24.17>
4. Sharma SB, Janakiram TN, Baxi H, Chinnasamy B. Trigemino-cardiac reflex during endoscopic juvenile nasopharyngeal angiofibroma surgery: an appraisal. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2017;274(7):2779-2784. <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4521-z>
5. Овчар Т.А., Лазарев В.В. Анестезиологическое обеспечение при функциональной эндоскопической эндоназальной риносинусхирургии у детей. *Анестезиология и реаниматология*. 2020;1:55-62. <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology202001155>
6. Бородулин В.Г., Филимонов В.Н., Филимонов С.В. Блокада крылонебного ганглия и верхнечелюстного нерва небным доступом как способ предваряющей анестезии и обескровливания при ринолгических вмешательствах / *Российская ринология*. – 2014. - Т. 22. - № 3. - С. 62-63.
7. Киселев, А. С. К истории открытия Ganglionseptinasi и его значение для клинической ринологии / А. С. Киселев // *Российская ринология*. — 1996. — № 5. — С. 35-37.
8. Кастыро, И. В. Болевой синдром и вегетативный ответ после септопластики костного отдела перегородки носа / И. В. Кастыро, Е. Н. Демина, К. А. Гулинов // *Российский журнал боли*. — 2014. — № 1 (42). — С. 36.
9. Кастыро, И. В. Сегмент БТ и ринокардиальный рефлекс при септопластике / И. В. Кастыро // *Российская оториноларингология*. — 2014. — № 1 (68). — С. 83-85.
10. Тунян, Н. Т. Рефлексогенные зоны ЛОР-органов / Н. Т. Тунян ; под ред. Я. А. Накатиса. — Санкт-Петербург, 2005. — 10 с.
11. Baxandall, M. L. The nasocardiac reflex / M. L. Baxandall, J. L. Thorn // *Anaesthesia*. — 1988. — Vol. 43, № 6. — P. 480-481.
12. Haldar R, Kaur J, Bajwa SJ. Nasocardiac reflex during aspiration and injection through a nasogastric tube: An infrequent occurrence. *Indian J Crit Care Med*. 2015 Apr;19(4):237-9. doi: 10.4103/0972-5229.154574. PMID: 25878434; PMCID: PMC4397633..
13. Kaufman J, Wright GW. The effect of nasal and nasopharyngeal irritation on airway resistance in man. *AmRevRespirDis*. 1969 Nov;100(5):626-30. doi: 10.1164/arrd.1969.100.5.626. PMID: 4316177.0.
14. Undem BJ, McAlexander M, Hunter DD. Neurobiology of the upper and lower airways. *Allergy*. 1999;54Suppl 57:81-93. doi: 10.1111/j.1398-9995.1999.tb04409.x. PMID: 10565483..
15. Kesimci E, Öztürk L, Bercin S, Kırış M, Eldem A, Kanbak O. Role of sphenopalatine ganglion block for postoperative analgesia after functional endoscopic sinus surgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2012;269(1):165-169. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1702-z>
16. Бородулин В.Г. Применение блокады крылонебного ганглия в хирургическом лечении патологии полости носа. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 2015.
17. Виганд М.Э., Иро Х. Эндоскопическая хирургия околоносовых пазух и переднего отдела основания черепа. Пер. с англ. Кочкин Р.В., Кузьменко Е.В., Кутько А.П., и др.— М.: Медицинская литература; 2014. — 296 с.
18. Вайсблат С.Н. Местное обезболивание при операциях на лице, челюстях и зубах/С.Н. Вайсблат.-М.:Книга по Требованию,2013.-470с.

АНЕСТЕЗИЯ И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ, ЛАКТАТА, КОРТИЗОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ЭНДОНАЗАЛЬНОЙ РИНОСИНОСУХИРУРГИИ У ДЕТЕЙ

Овчар Т.А.¹, Лазарев В.В.².

¹ГБУЗ “Морозовская Детская Городская Клиническая Больница” ДЗМ.

Российская Федерация, 119049 Москва, 4-й Добрынинский пер., д. 1.

²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ

Российская Федерация, 1117997 Москва, ул. Островитянова д.1

Введение. Одной из важных задач анестезии является защита организма от реакции на операционный стресс.

Цель исследования - оценить выраженность стресс - реакции при различных методах анестезии при функциональной эндоскопической эндоназальной риносинусхирургии детей.

Материал и методы. Исследование было проведено у 100 пациентов в возрасте от 6 до 17 лет с оценкой физического состояния по шкале ASA 1-2. В зависимости от метода поддержания анестезии пациенты были разделены на две сопоставимые группы. Отличались группой анальгетической составляющей. 1-ая группа: регионарные методы анестезии — крылонобная анестезия нёбным доступом (палатинальная) и инфраорбитальная внутритротовым доступом, выполняемые билатерально. 2-ая группа: внутривенное введение раствора трамадола.

Проводился анализ глюкозы, лактата и кортизола в плазме крови, взятых до анестезии ингаляционным анестетиком, в момент травматичного этапа операции, и в момент наложения швов, в конце операции.

Результаты. В динамике значения глюкозы, лактата и кортизола плазмы крови не имели статистически значимых различий между группами на всех этапах исследования.

Выводы. Все варианты проводимых анестезий позволяли обеспечить высокую степень анестезиологической защиты при функциональной эндоскопической эндоназальной риносинусхирургии у детей.

Ключевые слова: анестезия, глюкоза, лактат, кортизол, риносинусхирургия.

Anesthesia and the level of glucose, lactate, and cortisol in blood plasma during functional endoscopic endonasal rhinosinus surgery in children.

Tatyana A. Ovchar¹, Vladimir V. Lazarev².

¹Morozov Children’s City Clinical Hospital, Moscow, Russia.

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia.

Introduction. One of the important tasks of anesthesia is to protect the body from the reaction to operational stress.

The aim is to evaluate the severity of stress reactions in various methods of anesthesia in functional endoscopic endonasal rhinosinus surgery in children.

Material and methods. A study was conducted in 100 patients aged 6 to 17 years with an assessment of physical condition on the ASA 1-2 scale. Depending on the method of maintaining anesthesia, the patients were divided into two comparable groups.

The groups of analgesic component differed. Group 1: regional anesthesia methods — cranial anesthesia with palatine access (palatine) and infraorbital intraoral access, performed bilaterally. Group 2: intravenous administration of tramadol solution.

The analysis of glucose, lactate and cortisol in blood plasma taken before anesthesia with an inhalation anesthetic, at the time of the traumatic stage of the operation, and at the time of suturing, at the end of the operation.

Results. In dynamics, plasma glucose, lactate and cortisol values had no statistically significant differences between the groups at all stages of the study.

Conclusions. All variants of anesthesia performed allowed to provide a high degree of anesthetic protection during functional endoscopic endonasalrhinosinus surgery in children

Keywords: anesthesia, glucose, lactate, cortisol, rhinosinus surgery.

Введение. При функциональной эндоскопической эндоназальнойриносинусохирургии у детей, как при любом вмешательстве в организме, возникает стрессовая реакция с изменением функции всех органов и систем в целом, что было показано в многочисленных ранее выполненных исследованиях[4]. Задача анестезии обеспечить защиту организма в своем ответе на переносимый стресс.

Цель исследования – оценить выраженность стресс-реакции при различных методах анестезии при функциональной эндоскопической эндоназальнойриносинусохирургии у детей.

Материал и методы. Проведенооткрытое, сравнительное, рандомизированное исследование, в параллельных группах со случайной выборкой было включено 100 пациентов обоих полов в возрасте от 6 до 17 лет с оценкой физического состояния по шкале ASA 1-2, которым выполнялось плановое эндоскопическое эндоназальное оперативное вмешательство длительностью до 2-х часов.

Анестезиологическое обеспечение проводилось по принятым и действующим протоколам в рамках существующих нормативных положений по используемым технологиям и инструкциям к лекарственным препаратам.

С профилактической целью вводили внутривенно 5 % раствор транексамовой кислоты в дозе 10–15 мг/кг массы тела за 30 мин до оперативного вмешательства согласно инструкции. Премедикация перед анестезией не проводилась.

Вводную анестезию осуществляли ингаляцией севофлурана через лицевую маску с предварительным заполнением дыхательного контура наркозного аппарата газонаркоотической смесью с содержанием анестетика 7–8 об% в газовом потоке 6 л/мин кислородно-воздушной смеси в соотношении 1 : 1 (O₂–Air = 1:1) и внутривенным введением раствора пропофола в дозе

2 мг/кг массы тела. Интубацию трахеи выполняли после внутривенного введения раствора рокурония бромид в дозе 0,6 мг/кг массы тела. Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) проводили с использованием наркозно-дыхательного аппарата Primusвежего газа 1 л/мин (Lowflowanaesthesia) по закрытому контуру.

В зависимости от методики поддержания анестезии пациенты были разделены на две сопоставимые группы по 50 человек (табл. 1): **1-я группа** (Гр.1, n = 50) — ингаляция севофлурана в потоке 1 л/мин газовой смеси O₂–Air = 1:1 с целевым значением минимальной альвеолярной концентрации анестетика (МАК) 0,7–0,9, выполненные сразу после индукции анестезии регионарные блокады — крылонёбная анестезия нёбным [1] доступом (палатинальная) и инфраорбитальнаявнутриротовым доступом билатерально[2] раствором ропивакаина из расчета V (мл) = возраст в годах/10 [3]. Формула применима для расчета объема ропивакаина для каждой из 4-х блокад, а суммарная доза ропивакаина не превышает максимально допустимую дозу для регионарных блокад. Концентрации ропивакаина различаются в зависимости от возраста пациента (до 12 лет допустимая концентрация составляет 0,5 %, старше 12 лет — 0,75 %); **2-я группа** (Гр.2, n = 50) — ингаляция севофлурана в потоке 1 л/мин газовой смесиO₂–Air = 1:1 с целевым значением 1,5 МАК анестетика, внутривенно струйно вводился 5 % раствор трамадола из расчета 2 мг/кг массы тела.

Исследовалась венозная кровь, взятая на голодный желудок до анестезии ингаляционным анестетиком, в момент травматичного этапа операции, и в момент наложения швов, в конце операции. Анализ глюкозы и лактата проводился сразу в течение 5-10 минут с помощью газоанализатора «GemPremier 4000». Исследование кортизола производилось в течение 10 часов с момента взятия пробы крови с помощью иммунохимического анализатора «Beck-manCoulter Dx1800» (США, 2014). В оценке получаемых данных использовались следующие референсные значения: глюкоза – 3,9-5,8 ммоль /л; лактат – 0,7-2,2 ммоль /л; кортизол – 66-644 нмоль/л.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью программы Statistica 10.0. Анализ характера распределения полученных данных проводили по критерию Колмогорова–Смирнова при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей [Q1; Q3]. Для оценки статистически значимых межгрупповых различий использовали критерий Манна–Уитни (U-тест), внутргрупповых межэтапных различий — критерий Уилкоксона. Уровень статистически значимых различий принимали при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Межгрупповых достоверных различий по возрасту, весу и росту обнаружено не было, а также по длительности анестезии и времени оперативного вмешательства группы были между собой сопоставимы (табл.1).

Таблица 1. Общая характеристика пациентов по группам Me(Q₁; Q₃)

Показатель	Группа		
	1, n=50	2, n=50	Значение p в оценке статистически значимых различий между группами
Возраст, лет	15 (12;16)	15 (14; 17)	0,263
Масса тела, кг	57,5 (44; 69)	61,5 (52; 70)	1,000
Рост, см	167,5 (155; 180)	170 (158;178)	0,142
Длительность анестезии, мин	100 (80; 110)	100 (80; 120)	0,762
Длительность операции, мин	80 (55; 90)	80 (60; 100)	0,575

В динамике значения глюкозы, лактата и кортизола плазмы крови не имели статистически значимых различий между группами на всех этапах исследования, что свидетельствовало об эффективности обеих методик анестезии и подтверждалось отсутствием стресс-реакции даже в наиболее травматичный этап операции (таблица 2).

При анализе динамики значений глюкозы внутри групп на разных этапах исследования значимых различий в обеих группах между 3-м и 2-м этапами не отмечалось (Гр1, $p_{3-2} = 0,071$; Гр2, $p_{3-2} = 0,309$). Между 2-м и 1-м этапами исследования (Гр1, $p_{2-1} = 0,001$; Гр2, $p_{2-1} = 0,051$) показатели имели статистически значимые различия в Гр1, а также между 3-м и 1-м этапами (Гр1, $p_{3-1} = 0,001$; Гр2, $p_{3-1} = 0,006$) показатели были статистически значимо различны в обеих группах. Несмотря на имеющиеся значимые различия на данных этапах исследования, концентрация глюкозы плазмы крови оставалась в пределах референсных значений ($N = 3,9-5,8$ ммоль/л). При сравнительном анализе медианы (Me) значений глюкозы просматривалась тенденция к несущественному повышению ее к концу операции в обеих группах (Гр1 — $Me_1 = 4,85$; $Me_2 = 5,2$; $Me_3 = 5,35$ / Гр2 — $Me_1 = 4,85$; $Me_2 = 5,0$; $Me_3 = 5,15$), что свидетельствовало о стабильности и эффективности проводимого анестезиологического обеспечения, достаточном уровне обезболивания в обеих группах. При анализе динамики значений лактата внутри групп на разных этапах исследования значимых различий в обеих группах между 2-м и 1-м, а также 3-м и 1-м этапами не отмечалось (Гр1, $p_{2-1} = 0,558$, Гр2, $p_{2-1} = 0,833$; Гр1, $p_{3-1} = 0,397$, Гр2, $p_{3-1} = 0,603$). Между 3-м и 2-м этапами

исследования (Гр1, р3-2 = 0,037, Гр2, р3-2 = 0,428) показатели были статистически значимо различны в Гр1. Несмотря на имеющиеся значимые различия 3-го и 2-го этапов в Гр1, показатели лактата оставались в пределах референсных значений.

Таблица 2. Динамика показателей глюкозы, лактата, кортизола на этапах исследования - Ме (Q1;Q3)

Показатель	Группа	Этапы исследования		
		1	2	3
Глюкоза, ммоль/л	Гр1	4,85 (4,4; 5,1)	5,2 (4,8; 5,7) р2-1 = 0,001	5,35 (5,0; 5,7) р3-1 = 0,001, р3-2 = 0,071
	Гр2	4,85 (4,2; 5,3) р*1 = 1,000	5,0 (4,3; 5,5) р2-1 = 0,051, р*2 = 0,557	5,15 (4,6; 5,6) р3-1 = 0,006, р3-2 = 0,309, р*3 = 1,000
Лактат, ммоль/л	Гр1	1,5 (1,2; 1,8)	1,3 (1,1; 1,8), р2-1 = 0,558	1,5 (1,2; 2,0), р3-1 = 0,397, р3-2 = 0,037
	Гр2	1,6 (1,13; 2,0) р*1 = 1,000	1,68 (1,4; 2,06) р2-1 = 0,833, р*2 = 1,000	1,6 (1,4; 1,9) р3-1 = 0,603, р3-2 = 0,428, р*3 = 1,000
Кортизол, ммоль/л	Гр1	369,28 (329,51; 485,59)	273,40 (220,84; 351,80) р2-1 = 0,011	322,00 (180,11; 413,01) р3-1 = 0,326, р3-2 = 0,865
	Гр2	288,61 (188,20; 393,18) р*1 = 1,000	181,27, (139,58; 491,61) р2-1 = 0,326, р*2 = 1,000	308,59 (210,70; 465,94) р3-1 = 0,888, р3-2 = 0,483, р*3 = 1,000

Примечание. р2-1, р3-1 и р3-2 — уровень статистически значимых различий между вторым-первым, третьим-первым и третьим-вторым этапами внутри группы; р*1, р*2, р*3 — уровень статистически значимых различий между группами на этапах исследования.

При сравнительном анализе медианы (Me) значений лактата плазмы крови отмечались незначительные колебания в пределах нормы (Гр1 — Me1 = 1,5; Me2 = 1,3; Me3 = 1,5 / Гр2 — Me1 = 1,6; Me2 = 1,68; Me3 = 1,6), что свидетельствовало об адекватной перфузии тканей, стабильности кислотно-основного состояния и эффективности проводимого анестезиологического обеспечения, в обеих группах. Однако в Гр1 отмечалась тенденция к снижению лактата к травматическому этапу операции с возвращением к исходным значениям к концу операции в отличие от Гр2, в которой уровень лактата имел тенденцию к повышению к травматическому пику операции, что может говорить о более надежной защите пациента от гипоперфузии в условиях пика стресса в группе регионарных методов обезболивания. Динамика значений кортизола характеризовалась тенденцией к снижению его уровня к наиболее травматическому этапу операции с последующим возвращением к исходным значениям к концу исследования в обеих группах (Гр1 — Me1 = 369,28; Me2 = 273,40; Me3 = 322,00 / Гр2 — Me1 = 288,61; Me2 = 181,27; Me3 = 308,59). При этом в Гр1 были отмечены значимые различия между 2-м и 1-м этапами (Гр1, p2-1 = 0,011; Гр2, p2-1 = 0,326), однако выявленные изменения находились в пределах референсных границ и свидетельствовали о стабильности и эффективности выполняемой анестезии. Между остальными этапами исследования в обеих группах не отмечалось статистически значимых различий (p > 0,05) (таблица 2.).

Выводы. Несмотря на то, что в ряде случаев были отмечены на этапах исследования достоверные изменения оцениваемых показателей, значения которых находились в рамках возрастных референсных величин, все варианты проводимых анестезий позволяли обеспечить высокую степень анестезиологической защиты при функциональной эндоскопической эндоназальной риносинусохирургии у детей, и могут быть рекомендованы к рутинному практическому применению.

Список литературы

1. Бородулин В.Г., Филимонов В.Н., Филимонов С.В. Блокада крылонебного ганглия и верхнечелюстного нерва небным доступом как способ предваряющей анестезии и обескровливания при ринологических вмешательствах / Российская ринология. – 2014. - Т. 22. - № 3. - С. 62-63.
2. Kesimci E, Öztürk L, Bercin S, Kırış M, Eldem A, Kanbak O. Role of sphenopalatine ganglion block for postoperative analgesia after functional endoscopic sinus surgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2012; 269(1):165-169. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1702-z>
3. Коробова, Л.С. Опыт применения крыло-небной анестезии при костно-пластических операциях в офтальмохирургии у детей / Л.С. Коробова, Е.В.Подусков, О.А. Легостаева и др. // Российская педиатрическая офтальмология. -2015. - №3. – С. 29 - 32.
4. Коробова, Л.С. Стресс-реакции при различных методах анестезии во время офтальмологических вмешательств у детей / Л.С. Коробова, В.В. Лазарев, Л.М. Балашова // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. - 2018. - №3. - С. 67 – 73.

АМИЛОИДОЗ СЕРДЦА

Резник Е.В.^{1,2}, Нгуен Т.Л.¹

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ,
Москва, Россия

²ГБУЗ ГКБ №31 ДЗМ, Москва, Россия

Резюме.

Амилоидоз (амилоидозы) представляет собой группу заболеваний, которые характеризуются внесклеточным отложением специфического гликопротеида (амилоида). Амилоидная инфильтрация тканей и органов приводит к увеличению их размеров, повреждению/гибели клеток и нарушению их функционирования. Клиническая картина разнообразна и зависит от того, в каких органах откладывается амилоид и насколько нарушается их функция. Несмотря на то, что амилоидоз нередко встречается в клинической практике, к сожалению, эта проблема оставлена без внимания со стороны Российских научных обществ, периодических изданий и врачей, которые, даже несмотря на свой опыт и высокую квалификацию, не диагностируют амилоидоз, тем более кардиальный.

Ключевые слова: амилоидоз сердца, амилоидная кардиомиопатия, хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка, фибрилляция предсердий, гипертрофия левого желудочка, хроническая болезнь почек, альбуминурия, нефротический синдром

Cardiac Amyloidosis

E.V. Reznik^{1,2}, T.L. Nguyen¹

¹Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

²«City Clinical Hospital №31» of Healthcare Department of Moscow, Moscow, Russia

Abstract

Cardiac amyloidosis (amyloid cardiomyopathy) is a disease damage to the heart caused by extracellular amyloid deposition. In some cases, there may be local damage to the structures of the heart, for example, the atria; more often, heart damage is part of a systemic (generalized) pathology. Depending on the amyloid precursor protein, 36 types of amyloidosis are described, among which hereditary and acquired forms are distinguished. Cardiac amyloidosis is diagnosed 1) in the case of the amyloid infiltration in the myocardial biotates or 2) in the case of non-cardiac amyloid deposition and the left ventricular wall thickening >12 mm without arterial hypertension and other reasons. The heart is most often affected in AL-, ATTR-, AA-, AANF-types of amyloidosis. Cardiac amyloidosis should be considered in patients with a heart failure with an unclear etiology, especially with preserved left ventricular ejection fraction, refractory to treatment, with proteinuria and CKD 4-5, in patients with idiopathic atrial fibrillation and conduction disturbances, in patients with left ventricular wall thickening of unclear etiology, low ECG voltage, unexplained arterial hypotension and pulmonary hypertension. Screening for cardiac amyloidosis should include non-invasive methods such as electrophoresis and immunofixation of blood and urine proteins, the free light lambda and kappa chains of immunoglobulins, 99Tc-DPD scintigraphy, genetic testing (if hereditary variants of amyloidosis are suspected), as well as a histological examination of biopsy samples stained with Congo red and polarizing microscopy.

Key words: *cardiac amyloidosis, amyloid cardiomyopathy, chronic heart failure with preserved ejection fraction, atrial fibrillation, left ventricular hypertrophy, chronic kidney disease, albuminuria, nephrotic syndrome*

Введение

Амилоидоз (амилоидозы) представляет собой группу заболеваний, которые характеризуются внесклеточным отложением специфического гликопротеида (амилоида) [1]. Амилоидная инфильтрация тканей и органов приводит к увеличению их размеров, повреждению/гибели клеток и нарушению их функционирования [2, 3]. Клиническая картина разнообразна и зависит от того, в каких органах откладывается амилоид и насколько нарушается их функция. Несмотря на то, что амилоидоз нередко встречается в клинической практике, к сожалению, эта проблема оставлена без внимания со стороны

Российских научных обществ, периодических изданий и врачей, которые, даже несмотря на свой опыт и высокую квалификацию, не диагностируют амилоидоз, тем более кардиальный [4].

В зависимости от белка-предшественника амилоида в настоящее время выделяют 36 типов амилоидоза (Таблица 1) [5].

Таблица 1. Классификация амилоидоза [5]

Table 1. Classification of amyloidosis [5].

Тип/ Type	Белок-предшественник/место продукции при системных формах/ Precursor protein/place of its synthesis in systemic forms	Системный(С), Локальный (Л)/ Systemic (S) and/or localized (L)	Приобретенный(П), наследственный (Н)/ Acquired (A) or hereditary (H)	Органы, которые поражаются/ Target organs
AL	Λ и κ-легкие цепи иммуноглобулинов (Ig)/костный мозг/ Λ and κ-immunoglobulin light chain/ Bone marrow	С, Л/ S, L	П, Н/ A, H	Все органы, кроме центральной нервной системы (ЦНС), почти патогномичны перiorбитальная пурпура и макроглоссия/ All organs, usually except CNS, macroglоссия and periorbital purpura are almost pathognomonic
AH	Тяжелые цепи Ig/ Immunoglobulin heavy chain	С, Л/ S, L	П/ A	Все органы, кроме ЦНС/ All organs except CNS
AA	Сывороточный амилоид А (SAA- белок) / печень/ Serum amyloid A (SAA-protein) / liver	С/ S	П/ A	Все органы, кроме ЦНС/ All organs except CNS
ATTR	Транстиретин дикий/печень/ Transthyretin, wild type/liver	С/ S	П/ A	Сердце (больше у мужчин) сухожилия, связки, синовиальная оболочка/ Heart mainly in males, Lung, Ligaments, Tenosynovium
	Транстиретин мутантный/печень/ Transthyretin, variants/liver	С/ S	Н	Периферическая нервная система, в т.ч. вегетативная, сердце, глаза, мягкая и паутинная оболочки головного мозга/ PNS, ANS, heart, eye, leptomen
Aβ ₂ M	β ₂ -микроглобулин дикий/ β ₂ -Microglobulin, wild type	С/ S	П/ A	Ассоциированный с гемодиализом: опорно- двигательный аппарат/ Hemodialysis associated: Musculoskeletal System
	β ₂ -микроглобулин мутантный/ β ₂ -Microglobulin, variant	С/ S	Н	Ассоциированный с гемодиализом: вегетативная нервная система/ Hemodialysis associated: ANS
AGel	Гелсолин/ Gelsolin, variants	С/ S	Н	Периферическая нервная система, роговица/ PNS, cornea
AApoAI	Аполипопротеин А I/ Apolipoprotein A I, variants	С/ S	Н	Сердце, печень, почки, периферическая нервная система, яички, гортань, кожа/ Heart, liver, kidney, PNS, testis, larynx (C terminal variants), skin (C terminal variants)
AApoAII	Аполипопротеин А II/ Apolipoprotein A II, variants	С/ S	Н	Почки/ Kidney

AApoAIV	Аполипопротеин А IV/ Apolipoprotein A IV, variants	C/ S	П/ А	Почки/ Kidney
AApoCII	Аполипопротеин С II/ Apolipoprotein C II, variants	C/ S	Н	Почки/ Kidney
AApoCIII	Аполипопротеин С III/ Apolipoprotein C III, variants	C/ S	Н	Почки/ Kidney
ALys	Лизоцим/ Lysozyme, variants	C/ S	Н	Почки/ Kidney
ALECT2	Лейкоцитарный хемотаксический фактор-2/ Leukocyte Chemotactic Factor-2	C/ S	П/ А	Почки/ Kidney
AFib	Фибриноген α / Fibrinogen α , variants	C/ S	Н	Почки/ Kidney
ACys	Цистатин С/ Cystatin C, variants	C/ S	Н	Периферическая нервная система, кожа/ PNS, skin
ABri	ABriPP/ ABriPP, variants	C/ S	Н	ЦНС/ CNS
ADan	ADanPP/ ADanPP, variants	Л/ L	Н	ЦНС/ CNS
A β	β -белок дикий/ Ab protein precursor, wild type	Л/ L	П/ А	ЦНС/ CNS
	β -белок вариантный/ Ab protein precursor, variant	Л/ L	Н	ЦНС/ CNS
A α Syn	α -Synuclein	Л/ L	П/ А	ЦНС/ CNS
Atau	Tau	Л/ L	П/ А	ЦНС/ CNS
APrP	Прионовый белок дикий/ Prion protein, wild type	Л/ L	П/ А	Болезнь Крейтцфельда-Якоба, фатальная инсомния/ CJD, fatal insomnia
	Прионовый белок вариантный/ Prion protein variants	Л/ L	Н	Болезнь Крейтцфельда-Якоба, болезнь Геретманна-Штраусслера- Шейнкера, фатальная инсомния, периферическая нервная система/ CJD, GSS syndrome, fatal insomnia, PNS
Acal	Прокальцитонин/ (Pro)calcitonin	Л/ L	П/ А	Опухоль из С-клеток щитовидной железы/ C-cell thyroid tumors
AIAPP	Островковый амилоидный полипептид/ Islet amyloid polypeptide	Л/ L	П/ А	Островки Лангерганса, инсулинома/ Islets of Langerhans, Insulinomas
AANF	Предсердный натрийуретический пептид (ANF) / предсердия/ Atrial natriuretic factor / atria	Л/ L	П/ А	Изолированный амилоидоз предсердий/ Cardiac atria

APro	Пролактин/ Prolactin	Л/ L	П/ A	Прولاكتينوما гипофиза/ Pituitary prolactinomas, aging pituitary
AIns	Инсулин/ Insulin	Л/ L	П/ A	Ятрогенный в области инъекций/ Iatrogenic, local injection
ASPC	Белок сурфактанта легких/ Lung surfactant protein	Л/ L	П/ A	Легкие/ Lung
AGal7	Галектин 7/ Galectin 7	Л/ L	П/ A	Кожа/ Skin
ACor	Корнеодесмосин/ Corneodesmosin	Л/ L	П/ A	Ороговевший эпителий, волосные фолликулы/ Cornified epithelia, hair follicles
AMed	Лактадгерин/ Lactadherin	Л/ L	П/ A	Сенильные изменения аорты/ Senile aortic media
Aker	Кератоэпителин/ Kerato-epithelin	Л/ L	П/ A	Роговица/ Cornea
ALac	Лактоферрин/ Lactoferrin	Л/ L	П/ A	Роговица/ Cornea
AOAAP	Одонтогенный амелобласт- ассоциированный протенин/ Odontogenic ameloblast-associated Protein	Л/ L	П/ A	Одонтогенные опухоли/ Odontogenic tumors
ASem1	Семеногелин 1/ Semenogelin 1	Л/ L	П/ A	Семенные пузырьки/ Vesicula seminalis
AEnf	Энфурвитин/ Enfurvitide	Л/ L	П/ A	Ятрогенный/ Iatrogenic
ACatK	Катепсин K/ Cathepsin K	Л/ L	П/ A	Опухоль-ассоциированный/ Tumor associated

Abbreviations: ANS - autonomic nervous system, CJD - creutzfeldt Jakob disease, CNS - central nervous system, GSS - Gerstmann–Straußler–Scheinker, PNS - peripheral nervous system

С клинической точки зрения выделяют локальные, характеризующиеся вовлечением одного органа, и системные (генерализованные) формы амилоидоза, при которых поражаются многие органы и системы органов [6].

Амилоидоз сердца (амилоидная кардиомиопатия) по сути является формой вторичной рестриктивной или гипертрофической кардиомиопатии, обусловленной накоплением амилоида.

Амилоидоз сердца (амилоидную кардиомиопатию) необходимо диагностировать при выявлении амилоидной инфильтрации при эндокардиальной биопсии или при выявлении амилоида внесердечной локализации и утолщении стенки левого желудочка (ЛЖ) >12 мм в отсутствии артериальной гипертензии (АГ) или других потенциальных причин развития гипертрофии ЛЖ [7].

Сердце поражается при системном AL-, ATTR-, AA-, Aβ2m-, ALproAI-амилоидозе и локальном AANF-амилоидозе предсердий (Таблица 2) [1].

Таблица 2. Основные типы амилоидоза с поражением сердца [2, 8]

Table 2. Main types of amyloidosis with cardiac involvement [2, 8]

Тип/ Type	Возраст/ Age, years	Пол/ Gender	Характерные лабораторные данные/ Laboratory data	Лечение/ Treatment
AL	>50 лет	М ≥ Ж/ М ≥ F	Повышение свободных лямбда или каппа цепей в сыворотке с аномальным соотношением (норма 0,26-1,65) М-градиент в сыворотке крови и/или моче Снижение нормальных иммуноглобулинов Протеинурия/ Increase of free lambda or kappa chains in serum with an abnormal ratio (norm 0.26-1.65) M-gradient in serum and/or urine Decreased normal immunoglobulins Proteinuria	Химиотерапия Трансплантация стволовых клеток у ряда пациентов/ Chemotherapy Stem cell transplantation in selected patients
ДикийATTR/ ATTRwild type	60-80 лет	М : Ж >250 : 1/ М : F >250 : 1	Нет/ No	1. Подавление синтеза TTR (трансплантация печени; «выключатели» гена TTR) 2. Стабилизация TTR (тафамидис, дифлунизал, зеленый чай, AG10)
Наследственный ATTR/ Hereditary ATTR	Зависит от мутации: для V122I 60-65 лет у афроамериканцев; 20-30 лет в Португалии, Швеции, Греции, на Кипре; >40 лет в Великобритании/ Depends of mutation: V122I in afroamericans - 60-65 years; 20-30 years in Portugale, Shweden, Greese, Kipr; >40 years in Great Britain	50-72% М	Нет/ No	3. Расщепление амилоидных фибрилл (доксциклин с таурурсодоэохисоловой кислотой, моноклональный антитела)/ 1. Suppression of TTP synthesis (liver transplantation; TTP gene «switches») 2. Stabilization of TTP (tafamidis, diflunisal, green tea, AG10) 3. Cleavage of amyloid fibrils (doxycycline with taurursodeoxycholic acid, monoclonal antibodies)

AA	Через 20-30 лет наличия хр. воспалительного заболевания/ 20-30 years after the onset of the chronic inflammatory disease	M=Ж/ M=F	Повышение СОЭ, С-реактивного белка, белка SAA в крови Протеинурия/ Increased ESR, C-reactive protein, SAA protein in the blood Proteinuria	Лечение основного заболевания Цитостатики Моноклональные антитела Диметилсульфоксид Эпродисат Гепарин Статины Фибриллекс/ Treatment of the underlying disease Cytostatics Monoclonal antibodies Dimethyl sulfoxide Eprodisate Heparin Statins Fibrillex
AAAF	Пожилые/ Olderly	> Ж/ > F	Нет/ No	
Aβ2M	Пациенты, получающие лечение гемодиализом, а также с тяжелой преддиализной ХБП/ Hemodialysis patients and severe predialysis CKD		Повышение уровня β2- микроглобулина в крови, антитела к нему/ Increase in the level of β2- microglobulin in the blood, antibodies to it	

Примечание: Ж – женщины, М – мужчины, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ХБП – хроническая болезнь почек

Note: F - women, M - men, ESR - erythrocyte sedimentation rate, CKD - chronic kidney disease

Самыми частыми типами амилоидоза с поражением сердца являются AL- (70-80% амилоидоза сердца), ATTR- (15-25%) и AA-амилоидоз (2-7%) [6, 7].

Эпидемиология

До недавнего времени амилоидоз рассматривался как редкое заболевание, диагноз часто устанавливался на аутопсии. По данным Национального Центра Амилоидоза (National Amyloidosis Centre), распространенность амилоидоза в Великобритании составляет 0,8/100 000 населения [9]. Среди пациентов системы Medicare (национальная программа медицинского страхования) в США, госпитализированных в связи с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в 2000-2012 гг., отмечен значительный рост распространенности (от 8 до 17 на 100 000 человек в год) и заболеваемости (от 18 до 55 на 100 000 человек в год) амилоидозом сердца, наиболее заметный после 2006 г [10].

К сожалению, статистика по амилоидозу на сайте Федеральной службы государственной статистики (www.gks.ru) не представлена. В ГБУЗ ГКБ им. В. М. Буянова ДЗМ за период с 2008 по 2017 гг. выявляемость амилоидоза была низкой, в 2018-2019 гг. составила 30-53 на 100 000 человек в год (Таблица 3) [11].

Скрининговое обследование на амилоидоз необходимо при хронической сердечной недостаточности неясной этиологии (особенно с сохраненной фракцией выброса левого желудочка, без артериальной гипертензии (АГ) в анамнезе), рефрактерной к терапии, в сочетании с протеинурией и хронической болезнью почек 4-5 стадии; идиопатической фибрилляции предсердий и нарушениях проводимости, утолщении стенки левого желудочка неясной этиологии, наличии

низкого вольтажа зубцов при электрокардиографии, необъяснимой артериальной гипотензии и легочной гипертензии, гипертрофической, рестриктивной кардиомиопатии, дегенеративном аортальном стенозе, толщине межжелудочковой перегородки (Тмжп) ≥ 12 мм без явных причин для гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ). Состояния, при которых высока вероятность наличия амилоидоза и требуется его исключение/подтверждение, называются ключами (красными флагами) диагностики амилоидоза (Таблица 4).

Таблица 4. Ключи диагностики (показания для проведения скрининга) на амилоидоз [14]

Анамнез/физикальные данные	Данные визуализации	Клинико-инструментальные данные
<ul style="list-style-type: none"> ➤ ПЖСН неясной этиологии ➤ ХСНсФВ, особенно у мужчин ➤ Непереносимость и-АПФ или β-адреноблокаторов <ul style="list-style-type: none"> ➤ Карпальный туннельный синдром (двусторонний) ➤ Стеноз позвоночного канала ➤ Разрыв сухожилия бицепса ➤ Необъяснимая периферическая нейропатия (утрата тепловой/холодовой чувствительности, постуральная гипотензия, неустойчивый стул) ➤ Необъяснимые предсердные нарушения ритма и проводимости, в т.ч. требующие установки водителя ритма 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Накопление изотопов PYP, DPD или HMDP в миокарде при скintiграфии ➤ Признаки симметричной гипертрофии ЛЖ (и ПЖ) в отсутствии аортального стеноза или длительносуществующей АГ <ul style="list-style-type: none"> ➤ Инфильтративный фенотип (двухжелудочковая гипертрофия, перикардальный выпот, утолщение створок, межпредсердной перегородки) ➤ Диффузное субэндокардиальное или трансмуральное позднее накопление гадолиния или увеличение внеклеточного объема при МРТ ➤ Нарушение продольной сократимости (apical sparing on longitudinal strain imaging) <ul style="list-style-type: none"> ➤ Снижение сократимости ➤ Рестриктивный тип диастолической дисфункции ➤ Снижение вольтажа зубцов на ЭКГ <ul style="list-style-type: none"> ➤ Псевдоинфарктный паттерн при отсутствии нарушений локальной сократимости при ЭхоКГ 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ СН с необъяснимым утолщением стенки ЛЖ без его дилатации ➤ Концентрическое утолщение стенки ЛЖ, возможно, с несоответствием вольтажа QRS толщине стенки ЛЖ <ul style="list-style-type: none"> ➤ Снижение продольной функции ЛЖ, несмотря на нормальную ФВ ЛЖ ➤ Аортальный стеноз с утолщением стенки ПЖ, особенно с низким градиентом давления

Примечание: ЛЖ - левый желудочек, ПЖ – правый желудочек, ПЖСН - правожелудочковая сердечная недостаточность, СН – сердечная недостаточность, ФВ – фракция выброса, ХСНсФВ - хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка, DPD- ^{99m}technetium-3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid; HMDP- hydroxymethylene diphosphonate; PYP- technetium pyrophosphate

Table 4. Diagnostic keys (indications for screening) ATTR amyloidosis [14]

Anamnesis/physical examination	Imaging	Clinico-instrumental data
<ul style="list-style-type: none"> ➢ Right ventricular heart failure of unclear etiology ➢ CHFpEF, especially in men ➢ Intolerance to ACE inhibitors or beta-blockers ➢ Carpal tunnel syndrome (bilateral) <ul style="list-style-type: none"> ➢ Spinal stenosis ➢ Ruptured biceps tendon ➢ Unexplained peripheral neuropathy (loss of heat / cold sensitivity, postural hypotension, unstable stool) ➢ Unexplained atrial rhythm and conduction disturbances, incl. requiring pacemaker installation 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ Accumulation of PYP, DPD or HMDP isotopes in the myocardium during scintigraphy ➢ Signs of symmetric LV (and RV) hypertrophy in the absence of aortic stenosis or long-term hypertension ➢ Infiltrative phenotype (biventricular hypertrophy, pericardial effusion, thickened leaflets, atrial septum) ➢ Diffuse subendocardial or transmural late accumulation of gadolinium or increased extracellular volume on MRI ➢ Apical sparing on longitudinal strain imaging <ul style="list-style-type: none"> ➢ Decreased contractility ➢ Restrictive type of diastolic dysfunction <ul style="list-style-type: none"> ➢ Reducing the ECG voltage ➢ Pseudoinfarction pattern in the absence of violations of local contractility during echocardiography 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ HF with unexplained thickening of the LV wall without dilatation ➢ Concentric thickening of the LV wall, possibly with a mismatch between QRS voltage and LV wall thickness ➢ Decreased longitudinal LV function despite normal LVEF ➢ Aortic stenosis with RV wall thickening, especially with low pressure gradient

Note: LV - left ventricle, RV - right ventricle, HF - heart failure, EF - ejection fraction, CHFpEF - chronic heart failure with preserved left ventricular ejection fraction, DPD- ^{99m}technetium-3,3-diphosphono- 1,2-propanodicarboxylic acid; HMDP - hydroxymethylene diphosphonate; PYP- technetium pyrophosphate

Скрининг на амилоидоз должен включать как неинвазивные методы, в т.ч. электрофорез и иммунофиксацию белков крови и мочи, исследование на свободные легкие цепи иммуноглобулинов лямбда и каппа, ^{99m}Tc-DPD-сцинтиграфию, генетическое тестирование (при подозрении на наследственные варианты амилоидоза), так и морфологическое исследование биоптатов различной локализации с окраской Конго красным и поляризационной микроскопией (Рисунок 1). При подтверждении наличия депозитов амилоида в ткани необходимо типирование амилоида с панелью антисывороток. Наиболее эффективным методом типирования является иммуногистохимическое исследование, основанное на реакции антител с белком-предшественником [6]. Более надежным, но менее доступным методом типирования является масс-спектрометрия, позволяющая идентифицировать конкретный белок [7].



Рисунок 1. Алгоритм диагностики амилоидоза сердца [12]

ЭКГ – электрокардиограмма; ЭхоКГ – эхокардиография; МРТ – магнитно-резонансная томография; ЭМБ – эндомикардиальная биопсия; ПЖЖК – подкожная жировая клетчатка; МGUS – моноклональная гаммопатия неопределенного значения; АТТR-АС – АТТR-амилоидоз сердца, АС – амилоидоз сердца

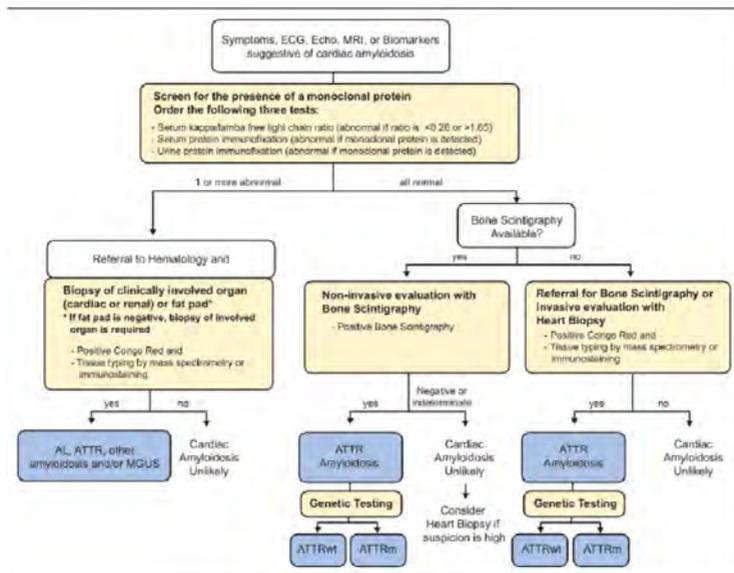


Figure 1. Algorithm for the diagnosis of cardiac amyloidosis [12]

ECG - electrocardiogram; Echocardiography - echocardiography; MRI - magnetic resonance imaging; EMB - endomyocardial biopsy; SCF - subcutaneous fatty tissue; MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance; АТТR-АС - АТТR-cardiac amyloidosis, АС - cardiac amyloidosis

Лечение амилоидоза

По современным представлениям, терапия любого типа амилоидоза делится на патогенетическую (антиамилоидную, направленную на уменьшение продукции или выведение белков-предшественников) и синдромальную [6].

Патогенетическое лечение АТТR-амилоидоза

В последние годы был достигнут огромный успех в лечении АТТR-амилоидоза. Основными направлениями терапии являются:

1. Подавление синтеза транстиретина (трансплантация печени; «выключатели» гена транстиретина)
2. Стабилизация транстиретина (тафамидис, дифлонизал, зеленый чай, ТТR-стабилизатор АG10)
3. Расщепление амилоидных фибрилл (доксциклин/таурдзоксиколевая кислота (TUDCA), моноклональный антитела) [13].

Патогенетическое лечение АL-амилоидоза

Для прекращения синтеза легких цепей иммуноглобулинов используют [6, 14] различные химиотерапевтические препараты (алкилирующие агенты, стероиды, ингибитор протеасом – бортезомиб) и/или иммуномодулирующие препараты в комбинации с трансплантацией аутологичных стволовых клеток. Режимы терапии аналогичны тем, которые используются при множественной миеломе, но как правило, с использованием дексаметазона [14, 15].

Новые препараты для лечения АL-амилоидоза

Даратумумаб – моноклональное антитело к CD38 (кластер дифференцировки 38). У 129 пациентов с рефрактерным АL-амилоидозом на фоне лечения этим препаратом отмечен хороший гематологический ответ без значительного токсического влияния [16]. Венетоклакс, ингибитор ВСL-2 (В-cell lymphoma 2 protein/протеин В-клеточной лимфомы 2), недавно начал

применяться при множественной миеломе, особенно при наличии мутации t(11;14), которая также встречается при AL-амилоидозе [16].

Патогенетическое лечение АА-амилоидоза

Патогенетическая терапия АА-амилоидоза включает в себя лечение основного заболевания в соответствии с клиническими рекомендациями и лечение, направленное на амилоидные отложения. У пациентов с имеющимся АА-амилоидозом цитостатики позволяют добиться клинического улучшения, у части пациентов предотвращают или замедляют развитие почечной недостаточности и улучшают прогноз.

Тоцилизумаб, моноклональное антитело к интерлейкину-6, оказалось эффективным в снижении уровня циркулирующего белка SAA и контроле прогрессирования амилоидоза при некоторых заболеваниях суставов. Эффект не зависит от основного заболевания [17].

Диметилсульфоксид является производной молекулы внутриклеточного липопротеина низкой плотности, вызывает резорбцию амилоида [17]. Необходимо его использование в высоких дозах (не менее 10 г/сут), что ограничено из-за крайне неприятного запаха [6].

Эпродинат – это низкомолекулярная молекула, похожая на гепарансульфат. Конкурендно связываясь с гликозамингликанами, он ингибирует полимеризацию амилоидных фибрилл и предотвращает стабилизацию отложений амилоида [18].

Гепарин может замедлять прогрессирование АА-амилоидоза, разрушая стабилизирующие связи между гликозамингликанами и SAA в отложениях, аналогично действию эпродината [19]. Статины также могут оказывать положительное влияние посредством ингибирования пути изопrenoида путем специфической блокировки фарнезилтрансферазы [20].

Фибриллекс – новый препарат, способствующий резорбции и разрушению амилоида. Его применение оправдано в качестве дополнения к терапии основного заболевания или к лечению колхицином [6].

Новые терапевтические мишени

R-1-[6-[R-2-carboxy-pyrrolidin-1-yl]-6-oxo-hexanoyl] pyrrolidine-2-carboxylic acid (CPHPC) – небольшая молекула, способная связываться с двумя субъединицами сывороточного амилоидного Р-компонента (SAP), уменьшая тем самым его сывороточную концентрацию. У 31 пациента с амилоидозом показано его положительное влияние на функцию почек без значительных побочных эффектов [21].

Антитело к SAP, дезамизумаб, безопасен и уменьшает количество амилоида в печени, хотя не показал влияния на депозиты амилоида в сердце и почках [16].

Моноклональные антитела к амилоиду (11-1F4), которые опсонизируют фибриллы и облегчают их удаление, показали положительный кардиальный ответ у 8 из 12 пролеченных пациентов [22].

На моделях мышей показана возможность подавления транскрипции SAA-белка антисмысловыми олигонуклеотидами, что приводило к снижению уровня SAA в крови на 50% и значительному уменьшению отложений амилоида [22]. Также на моделях мышей клодроновая кислота продемонстрировала возможность профилактики и лечения амилоидоза [23].

Синдромальная терапия

Синдромальная терапия амилоидоза направлена на уменьшение выраженности симптомов и признаков СН, лечение нарушений ритма и проводимости, коррекцию артериальной гипертензии и гипотензии и др. (Таблица 9).

Таблица 9. Синдромальная терапия амилоидоза сердца [4, 24]
Table 9. Syndromic therapy of cardiac amyloidosis

Клиническая ситуация/ Clinical situation	Лекарственный препарат/ Medicine	Примечание/ Note
Задержка жидкости, отечный синдром, ортопноэ/ Fluid retention, edema syndrome, orthopnea	Петлевой диуретик, часто в сочетании с антагонистом минералокортикоидных рецепторов/ A loop diuretic, often in combination with a mineralocorticoid receptor antagonist	Тщательная титрация дозы, предотвращение гиповолемии/ Careful dose titration, prevention of hypovolemia
Суправентрикулярные аритмии (фибрилляция / трепетания предсердий)/ Supraventricular arrhythmias (atrial fibrillation / flutter)	β-адреноблокатор/ β-blocker	Показан только в случае тахикардии, в большинстве случаев следует избегать из-за ЧСС-опосредованного поддержания сердечного выброса/ Indicated only in cases of tachycardia, in most cases should be avoided due to heart rate-mediated maintenance of cardiac output
	Амиодарон/ Amiodarone	Как правило, хорошо переносится. Способен поддерживать синусовый ритм/ Generally, well tolerated. Able to maintain sinus rhythm
	Верапамил, дилтиазем/ Verapamil, diltiazem	Противопоказаны, т.к. быстро развивается токсическое действие из-за связывания с амилоидными фибриллами/ Contraindicated, because toxic effect develops rapidly due to binding to amyloid fibrils
	Дигоксин/ Digoxin	Противопоказан в связи с возможностью быстрого развития гликозидной интоксикации из-за связывания с амилоидными фибриллами/ Contraindicated due to the possibility of rapid development of glycosidic intoxication due to binding to amyloid fibrils
Антикоагулянтная терапия/ Anticoagulant therapy	Следует назначать даже при синусовом ритме или низкой сумме баллов по шкале CHA2DS2VASC из-за высокого риска тромбоза предсердий/ Should be administered even with sinus rhythm or low CHA2DS2VASC score due to high risk of atrial thrombosis	
Удлинение интервала QT/ Prolongation of the QT		Необходимо с особой осторожностью назначать препараты, удлиняющие интервал QT, с тщательным

Клиническая ситуация/ Clinical situation	Лекарственный препарат/ Medicine	Примечание/ Note
interval		<p>мониторированием его продолжительности, в т.ч. антипсихотики (галоперидол, кветиапин, оланзапин), трициклические антидепрессанты (амитриптилин, нортриптилин, циталопрам), противорвотные средства (метоклопрамид, ондансетрон), антибиотики (ципрофлоксацин, азолы)/</p> <p>It is necessary with extreme caution to prescribe drugs that prolong the QT interval with careful monitoring of its duration, incl. antipsychotics (haloperidol, quetiapine, olanzapine), tricyclic antidepressants (amitriptyline, nortriptyline, citalopram), antiemetics (metoclopramide, ondansetron), antibiotics (ciprofloxacin, azoles)</p>

Ранняя диагностика позволяет достичь наилучших результатов лечения, в связи с чем заболевание, ранее считавшееся безнадежным, возможно, скоро станет излечимым или, по крайней мере, медленно прогрессирующим состоянием [4].

В докладе конференции будут представлены клинические случаи пациентов с AL, ATTR диким и наследственным, ALys-амилоидозом и поражением сердца [25, 26].

Список литературы/References:

- Hassan, W., et al., *Amyloid heart disease. New frontiers and insights in pathophysiology, diagnosis, and management*. Tex Heart Inst J, 2005. **32**(2): p. 178-84.
- Falk, R.H., et al., *AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis: A Review of Diagnosis and Therapy*. J Am Coll Cardiol, 2016. **68**(12): p. 1323-41.
- Mishra, S., et al., *Human amyloidogenic light chain proteins result in cardiac dysfunction, cell death, and early mortality in zebrafish*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013. **305**(1): p. H95-103.
- Резник, Е.В., et al., *Амилоидоз сердца: взгляд терапевта и кардиолога*. Архив внутренней медицины, 2020. **10**(6): p. 430-457.
- Benson, M.D., et al., *Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee*. Amyloid, 2018. **25**(4): p. 215-219.
- Лысенко (Козловская), Л.В., В.В. Рамеев, and С.В. Моисеев, *Клинические рекомендации по диагностике и лечению системного амилоидоза*. Клиническая фармакология и терапия, 2020. **29**(1): p. 13-24.
- Karafiátova, L. and T. Píka, *Amyloid cardiomyopathy*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2017. **161**(2): p. 117-127.
- Fontana, M., et al., *Myocardial Amyloidosis: The Exemplar Interstitial Disease*. JACC Cardiovasc Imaging, 2019. **12**(11 Pt 2): p. 2345-2356.
- Pinney, J.H., et al., *Systemic amyloidosis in England: an epidemiological study*. Br J Haematol, 2013. **161**(4): p. 525-32.
- Gilstrap, L.G., et al., *Epidemiology of Cardiac Amyloidosis-Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States*. Circ Heart Fail, 2019. **12**(6): p. e005407.
- Резник, Е.В., et al., *Ретроспективный анализ поражения сердечно-сосудистой системы у больных с системным амилоидозом*. Архив внутренней медицины, 2021.
- Maurer, M.S., et al., *Expert Consensus Recommendations for the Suspicion and Diagnosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis*. Circ Heart Fail, 2019. **12**(9): p. e006075.
- Manolis, A.S., et al., *Cardiac amyloidosis: An underdiagnosed/underappreciated disease*. Eur J Intern Med, 2019. **67**: p. 1-13.
- Wechalekar, A.D., et al., *Guidelines on the management of AL amyloidosis*. Br J Haematol, 2015. **168**(2): p. 186-206.

15. Kastritis, E. and M.A. Dimopoulos, *Recent advances in the management of AL Amyloidosis*. Br J Haematol, 2016. **172**(2): p. 170-86.
16. Strouse, C., et al., *Approach to a patient with cardiac amyloidosis*. J Geriatr Cardiol, 2019. **16**(7): p. 567-574.
17. Real de Asua, D., et al., *Systemic AA amyloidosis: epidemiology, diagnosis, and management*. Clin Epidemiol, 2014. **6**: p. 369-77.
18. Dember, L.M., et al., *Eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis*. N Engl J Med, 2007. **356**(23): p. 2349-60.
19. Zhu, H., J. Yu, and M.S. Kindy, *Inhibition of amyloidosis using low-molecular-weight heparins*. Mol Med, 2001. **7**(8): p. 517-22.
20. van der Hilst, J.C., et al., *Lovastatin inhibits formation of AA amyloid*. J Leukoc Biol, 2008. **83**(5): p. 1295-9.
21. Gillmore, J.D., et al., *Sustained pharmacological depletion of serum amyloid P component in patients with systemic amyloidosis*. Br J Haematol, 2010. **148**(5): p. 760-7.
22. Kluge-Beckerman, B., et al., *Antisense oligonucleotide suppression of serum amyloid A reduces amyloid deposition in mice with AA amyloidosis*. Amyloid, 2011. **18**(3): p. 136-46.
23. Kennel, S.J., et al., *Phagocyte depletion inhibits AA amyloid accumulation in AEF-induced huIL-6 transgenic mice*. Amyloid, 2014. **21**(1): p. 45-53.
24. Oerlemans, M., et al., *Cardiac amyloidosis: the need for early diagnosis*. Neth Heart J, 2019. **27**(11): p. 525-536.
25. Резник, Е.В., et al., *КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ НАСЛЕДСТВЕННОГО ТРАНСТИРЕТИНОВОГО АМИЛОИДОЗА*. Архив внутренней медицины, 2021. **11**(2): p. 229-240.
26. Резник, Е.В., et al., *ФИБРИЛЛЯЦИЯ ПРЕДСЕРДИЙ И СЕРДЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ В ДЕБИУТЕ AL-АМИЛОИДОЗА*. Архив внутренней медицины, 2021. **11**(6): p. 457-465.

ПОРТРЕТЫ БОЛЬНЫХ С АМИЛОИДОЗОМ

Резник Е.В.^{1,2}, Нгуен Т.Л.¹

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» МЗ РФ,
Москва, Россия

²ГБУЗ ГКБ №31 ДЗМ, Москва, Россия

Аннотация

Амилоидоз — группа заболеваний, характеризующихся внеклеточным отложением специфического гликопротеина (амилоида), что приводит к увеличению их размеров, повреждению/гибели клеток, нарушению их функции. Клиническая картина разнообразна. Амилоидоз редко встречается и сложно диагностируется. В данной статье мы представляем некоторые клинические случаи больных с различными видами амилоидоза.

Ключевые слова: амилоидоз сердца, амилоидная кардиомиопатия, хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка, фибрилляция предсердий, гипертрофия левого желудочка, хроническая болезнь почек, альбуминурия, нефротический синдром, амилоидная полинейропатия, транстиретин

Portraits of patients with amyloidosis

E.V. Reznik^{1,2}, T.L. Nguyen¹

¹ - Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

² – «City Clinical Hospital №31» of Healthcare Department of Moscow, Moscow, Russia

Abstract

Amyloidosis is a group of diseases characterized by the extracellular deposition of a specific glycoprotein (amyloid) that leads to an increase in their size, damage/death and dysfunction of cells and tissues. The clinical picture is varied. Amyloidosis is a rare disease and it is very difficult for the diagnosis. In this article, we are presenting some clinical cases of patients with various types of amyloidosis.

Key words: cardiac amyloidosis, amyloid cardiomyopathy, chronic heart failure with preserved ejection fraction, atrial fibrillation, left ventricular hypertrophy, chronic kidney disease, albuminuria, nephrotic syndrome, amyloid neuropathy, transthyretin

Введение

Амилоидоз — группа заболеваний, характеризующихся внеклеточным отложением специфического гликопротеина (амилоида), что приводит к увеличению их размеров, повреждению/гибели клеток, нарушению их функции. Клиническая картина разнообразна. Амилоидоз редко встречается и сложно диагностируется. В данной статье мы представляем некоторые клинические случаи больных с различными видами амилоидоза.

Клинический случай 1

Мужчину, 53 лет, без сердечно-сосудистой, тиреоидной и другой диагностированной патологии, токсических воздействий в анамнезе стала беспокоить одышка при физической нагрузке. Через месяц на электрокардиограмме (ЭКГ) зарегистрирована фибрилляция предсердий (ФП), тахисистолия, снижение вольтажа комплексов QRS в грудных отведениях, признаки гипертрофии миокарда правого желудочка с комплексом QRS типа qR, отсутствие адекватного нарастания зубца r в отведениях V3-V6 (Рис. 1).

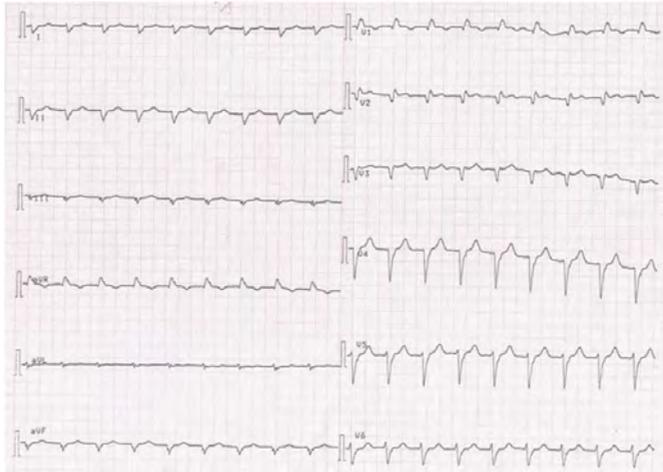


Рисунок 1. Электрокардиограмма. Фибрилляция предсердий с частотой 115 в минуту, снижение вольтажа зубцов r в отведениях I, II, III, aVL, aVF, V3-V6, признаки гипертрофии миокарда правого желудочка с комплексом QRS типа qR.

Figure 1. Electrocardiogram. Atrial fibrillation with ventricular rate 115 per minute, decreasing of r voltage in I, II, III, aVL, aVF, V3-V6, right ventricular hypertrophy qR type.

Тогда же амбулаторно при эхокардиографии (ЭхоКГ) выявлено утолщение стенок миокарда левого желудочка (ЛЖ) до 12 мм, дилатация левого предсердия до 43 мм, сохраненная фракция выброса ЛЖ (по Simpson)– 59%. Попытка восстановления синусового ритма амиодароном и с помощью электроимпульсной терапии привели к кратковременному успеху и возобновлению ФП через 12 часов. Планировалась радиочастотная абляция, которая была отложена в связи с выявлением тромбоза ушка левого предсердия при чреспищеводной ЭхоКГ. Рекомендованные лекарственные препараты (варфарин 3,75-5 мг в сутки под контролем международного нормализованного отношения, затем ривароксабан 20 мг/сутки; метопролола сукцинат 25 мг/сутки, затем бисопролол 5 мг/сутки; периндоприл 2,5 мг/сутки; торасемид 10 мг/сутки; спиронолактон 25 мг/сутки) принимал регулярно.

Через 8 месяцев после появления одышки в течение недели стали беспокоить синкопальные состояния с прикусом языка, непроизвольной дефекацией, развился эпизод макрогематурии, в связи с чем был госпитализирован.

При поступлении состояние тяжелое, бледность кожных покровов, отеки нижних конечностей, дыхание ослаблено в нижних отделах обоих легких, хрипов нет, частота дыхания 23 в минуту, насыщение крови кислородом (SpO₂) 98%, ритм сердца неправильный 90 ударов в минуту, артериальное давление (АД) 116/68 мм рт.ст. При лабораторном исследовании выявлено снижение гемоглобина до 104 г/л, гипопротенемия – 55 г/л, гипоальбуминемия – 26 г/л, протеинурия – 10 г/л в разовой порции мочи, нарастание креатинина до 686 мкмоль/л, мочевины до 40,5 ммоль/л, снижение рСКФ до 7,2 мл/мин/1,73м², аспартатаминотрансфераза – 58 МЕ/л (5-34), аланинаминотрансфераза – 45 МЕ/л (0-32), креатинфосфокиназа общая – 90 МЕ/л (21-215), МВ фракция креатинфосфокиназы – 12 МЕ/л (0-25), лактатдегидрогеназа общая – 471 МЕ/л (225-450), гамма-глутамилтранспептидаза – 1295 МЕ/л (9-39), щелочная фосфатаза – 1598 МЕ/л (64-306), альфа-амилаза – 392 МЕ/л (0-220), билирубин общий – 42,4 мкмоль/л (1,7-20,5), билирубин прямой – 35 мкмоль/л (0,86-5,00), тропонин I – 0,120 мкг/к (0,0-0,1, в динамике – нарастание до 1,020 мкг/к), антитромбин III – 67,8 % от N (80,0-120,0), D-димер – 324 нг/мл (64-550), N-концевой предшественник мозгового натрийуретического пептида >35000 нг/л [1].

При повторной эхокардиографии было выявлено утолщение стенки ЛЖ до 21-22 мм, легочная гипертензия 37 ммрт.ст., рестриктивный тип диастолической дисфункции ЛЖ, дилатация левого предсердия (43 мм), небольшой гидроперикард (Таблица 1, Рисунок 2)

Параметры	04.2018	08.2018	10.2018	Референс
Тмжп, мм	11	15	21	<10
Тэт, мм	12	14	22	<10
ФВЛЖ, %	>55	52	>55	>55

Таблица 1. ЭХОКГ в динамике

Parameter	04.2018	08.2018	10.2018	Reference
IVS-thickness, mm	11	15	21	<10
LVPW-thickness, mm	12	14	22	<10
LVEF, %	>55	52	>55	>55

Table 1. Echocardiography patient review



Рисунок 2. Апикальная четырехкамерная позиция: выраженная гипертрофия миокарда левого желудочка, дилатация предсердий, гидроперикард, утолщение створок митрального и трикуспидального клапанов.

Figure 2. Apical four-chamber position: marked hypertrophy of the left ventricular myocardium, atrial dilatation, hydropericardium, thickening of the mitral and tricuspid valve cusps.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости выявлено умеренное увеличение размеров обеих почек (левая: 132×69×60 мм; правая: 137×61×59 мм), гепатомегалия (левая доля кривой каудальной размер — 126 мм, правая доля кривой вертикальной размер — 210 мм), спленомегалия (150×73 мм), незначительное количество жидкости в брюшной полости[1].

Эхокардиографическая картина гипертрофической кардиомиопатии в сочетании с нефротическим синдромом (протеинурия до 10 г/л, суточная протеинурия не оценивалась, гипопротеинемия 55 г/л, гипоальбуминемия 26 г/л, гипоонкотические отеки, гиперлипидемия) и снижением функции почек позволили заподозрить у пациента системный амилоидоз[1].

Морфологически депозиты амилоида обнаружены в стенках артериол, мышечной и собственной пластинке слизистой оболочки толстой кишки, в стенках артериальных сосудов трепанобиоптата костного мозга и при аспирационной биопсии подкожно-жировой клетчатки при окраске Конго красным. При исследовании в поляризованном свете продемонстрирована способность к двойному лучепреломлению со свечением яблочно-зеленого и желтоватого цветов. В пробе Пачлера с перманганатом калия АА-тип амилоида исключён [1].

Мутации в генетранстретинане обнаружены, наследственный АТТН-амилоидоз был исключен. При иммунохимическом исследовании суточной мочи выявлено увеличение экскреции лёгких цепей иммуноглобулинов — kappa до 63,9 мг/л (норма <7,31 мг/л), lambda до 10 мг/л (норма <4,03 мг/л). При трепанобиопсии костного мозга наблюдалась низкая плазматизация костного мозга (число плазматических клеток 8 %), что позволило исключить множественную миелому и диагностировать AL-амилоидоз. Была запланирована консультация гематолога.

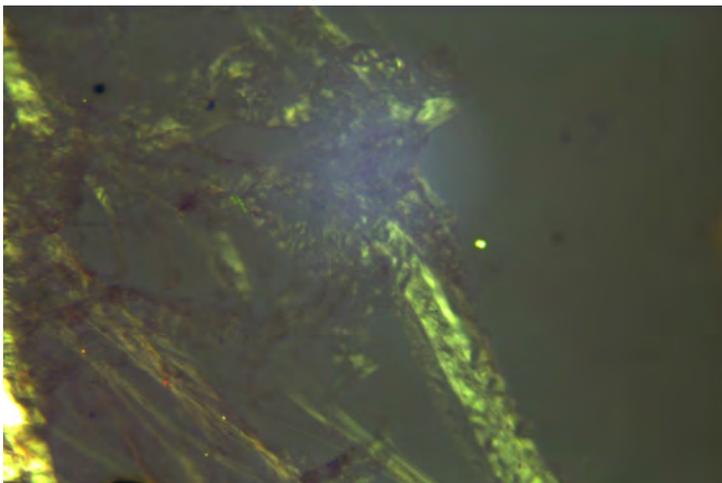


Рисунок 3. Биопсия подкожной жировой клетчатки (Фото предоставлены доктором Степановой Е.А.). Единичные неравномерно расположенные конгофильные депозиты, двойное лучепреломление со свечением яблочного-зелёного цвета (указано стрелкой). По визуальной шкале оценки grade CR 1+, местами CR 2+[1]

Figure 3. Biopsy of subcutaneous adipose tissue (Photo of Dr. EA Stepanova). Single irregularly spaced Congo red-stained deposits, birefringence with apple-green glow (arrow). On a visual grade scale CR 1+, sometimes CR 2+[1]

Несмотря на проводимую симптоматическую терапию, у больного нарастал отечный синдром, сохранялись выраженные симптомы почечной недостаточности, что потребовало проведения процедур гемодиализа. За время наблюдения отмечалось развитие коагулопатии, снижение тромбоцитов, рецидивирующие носовые кровотечения со

снижением гемоглобина до 60 г/л, прогрессивное снижение общего белка, катастрофическое повышение прокальцитонина. На 27-е сутки от начала госпитализации пациент скончался.

На аутопсии подтвержден диагноз системный амилоидоз (AL, IgG, κ) с поражением сердца (множественные отложения в интерстиции, эндокарде, стенках артериальных сосудов; кардиомегалия (масса сердца 885 г)), печени (отложения в стенках артериальных сосудов, строме порталных трактов, гепатомегалия (масса печени 4120 г)), селезенки (масса селезенки 320 г), почек (с субтотальным диффузным замещением клубочков, депозитами в стенках артериальных сосудов), надпочечников, щитовидной и поджелудочной желез, костного мозга, множественные отложения в артериальных стенках сосудов желудочно-кишечного тракта, подкожно-жировой клетчатке.

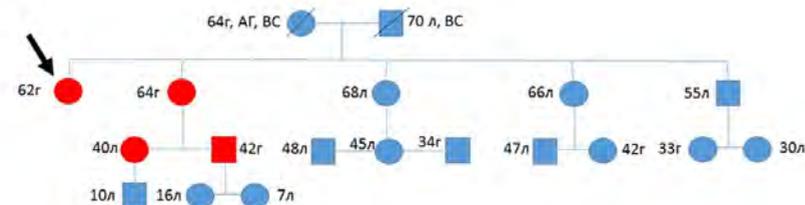
Клинический случай 2.

Пациентку Н с 58 лет начали беспокоить парестезии и в течение 2 лет выросла слабость в дистальных отделах нижних конечностей, затрудняющая ходьбу. Артериальную гипертензию, сахарный диабет, острые нарушения мозгового кровообращения, острый инфаркт миокарда в анамнезе, курение, злоупотребление алкоголем, аллергические реакции в анамнезе отрицала. Признаков автономной полинейропатии выявлено не было. Рост 168 см, вес 90 кг, стабильный на протяжении последних 5 лет. Первоначально симптомы рассматривались как проявление дегенеративного стеноза поясничного отдела позвоночника, выполнена декомпрессионная ламинэктомия. В связи с сохранением после оперативного лечения симптоматики, направлена в неврологический центр. В неврологическом статусе присутствовали признаки нижнего периферического, преимущественно дистального парапареза, чувствительные нарушения по полиневральному типу (симметричная поверхностная и глубокая гипестезия в дистальных отделах нижних конечностей, угнетение глубоких рефлексов, выраженный атактический синдром с сенситивным компонентом). На основании клинических данных и результатов электронейромиографического обследования, установлен диагноз аксональной сенсомоторной полинейропатии[2].

Для исключения амилоидной этиологии полинейропатии было проведено генетическое исследование пациентке, а затем ее родственникам. При генетическом тестировании по методу секвенирования по Сэнгеру в образцах дезоксирибонуклеиновой кислоты пациентки, ее старшей сестры, сына и дочери был выявлен вариант нуклеотидной последовательности в четвертом экзоне гена трансретина (*Chr18: 29178562, rs148538950, NM_000371.3:c.G368A:p.Arg123His*) в гетерозиготном состоянии (рис. 3)[2].

Результаты гистологического исследования: В биоптатах из разных отделов желудочно-кишечного тракта, при окраске Конго красным и исследовании в поляризованном свете, депозитов амилоида не выявлено. В биоптатах подкожной жировой клетчатки живота при окраске Конго красным и исследовании в поляризованном свете, выявлены микродепозиты амилоида, степень CR 1+[2].

Рисунок 4. Родословная пациентки. Кружком обозначены женщины, квадратом – мужчины. Красным цветом показаны члены семьи с выявленной мутацией, голубым – необследованные (обследование запланировано). Цифрами указан возраст. АГ – артериальная гипертензия в анамнезе, ВС – внезапная смерть[2]



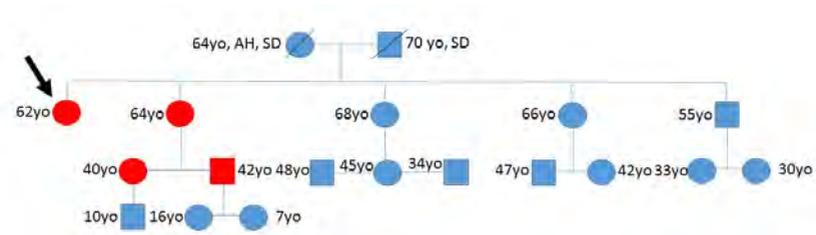
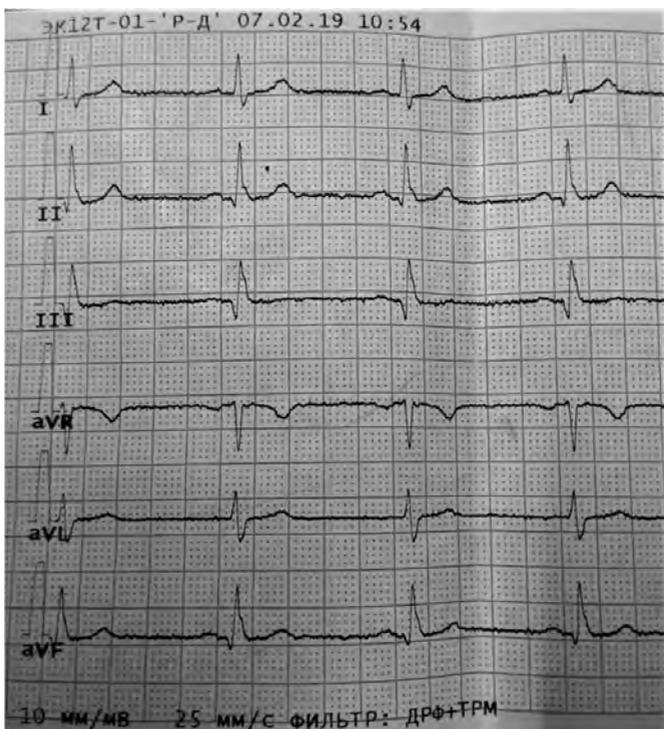


Figure 4. Pedigree of the patient. Women are indicated by a circle, men by a square. Family members with an identified mutation are shown in red, and unexamined family members are shown in blue (examination is planned). The numbers indicate the age. AH - a history of arterial hypertension, SD - sudden death, yo - years old [2]

На ЭКГ (рис. 4) ритм синусовый, частота сердечных сокращений (ЧСС) 68 ударов в мин., нормальное направление электрической оси сердца и нормальный вольтаж комплекса QRS (выше 5 мм в отведениях от конечностей и выше 10 мм в прекардиальных), патологический зубец q в III отведении продолжительностью 40 мс, амплитудой 0,3 мВ = 1/2 R [2].



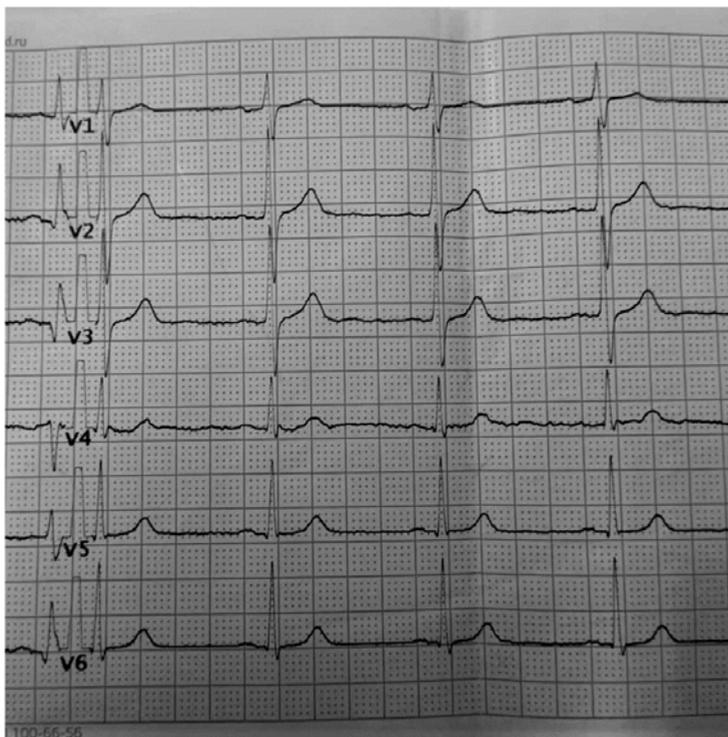


Рисунок 5. Электрокардиограмма пациентки

Figure 5. Patient's Electrocardiogram

При Холтеровском мониторинге ЭКГ регистрировался синусовый ритм с частотой; средняя ЧСС 79 уд/мин в течение дня, 67 уд/мин ночью и 75 уд/мин за весь период регистрации, максимальная ЧСС 145 уд/мин, минимальная 51 уд/мин; 8 желудочковых экстрасистол, 10 наджелудочковых экстрасистол, в том числе 3 по типу бигеминии, 1 парная, 1 пробежка наджелудочковой тахикардии из 3 комплексов. Паузы не зарегистрированы. За время мониторинга зарегистрированы безболевого эпизоды горизонтальной и коснисходящей депрессии сегмента ST до $-0,12$ мВ продолжительностью 78 сек в дневные часы[2].

При суточном мониторинге артериального давления (АД) среднее систолическое АД 115 и 112 мм рт.ст., среднее диастолическое АД 75 и 73 мм рт.ст. в дневные и ночные часы соответственно, степень ночного снижения систолического АД – 2%, диастолического АД – 3% (нондиппер)[2].

Несмотря на то, что у пациентки не было в анамнезе артериальной гипертонии, причин для перегрузки камер сердца объемом и/или давлением, при эхокардиографии выявлена концентрическая гипертрофия левого желудочка с толщиной межжелудочковой перегородки 13,8 мм, задней стенки 13,8 мм, сохраненной фракцией выброса (55%), дилатацией левого предсердия (35 мл/м²), легочной гипертензией (систолическое давление в легочной артерии 38 мм рт.ст.) и диастолической дисфункцией типа 1 (в трансмитральном потоке $E/A = 0,76$), митральная регургитация II-ой степени, трикуспидальная регургитация II-ой степени, легочная регургитация I-ой степени[2].

В общем биохимическом анализе крови, общем анализе мочи патологичности не выявлено

Расчетная скорость клубочковой фильтрации (СКФ, СКД-EPI) составила $96,2$ мл/мин/1,73м².

При ультразвуковом исследовании брюшной полости и забрюшинного пространства выявлены диффузные изменения увеличенной печени (краниокаудальный размер левой доли 120 мм, вертикальный косой размер правой доли – 172

мм), поджелудочной железы, конкременты (до 6 мм) желчного пузыря; размеры селезенки не увеличены 96×40мм; диффузные изменения паренхимы обеих почек, киста почечного синуса левой почки; гипозоженное (8×5мм).

Пациентке назначена специфическая антиамилоидная терапия тафамидисом.

Клинический случай 3

У пациента Г., 68 лет, после интенсивных занятий спортом в 23 года диагностировали гипертрофию ЛЖ. С 51 года страдал артериальной гипертензией с максимальными цифрами артериального давления (АД) до 180/120 мм рт.ст. В 53 года диагностирована ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения II-III ФК. В 55 лет проведено стентирование коронарных артерий (установлено 2 стента). В 61 год на фоне стрессовой ситуации развилось депрессивное расстройство с анорексией, отмечилось снижение массы тела на 20 кг. При онкопоиске злокачественных новообразований выявлено не было. С 62 лет появились и стали нарастать онемение и слабость в верхних и нижних конечностях. В 63 года при стимуляционной электрокардиографии выявлены признаки дистальной аксональной демиелинизирующей сенсорно-моторной полинейропатии. В 67 лет диагностирован синдром карпального канала, попытка глюкокортикоидной терапии привела к ухудшению состояния. В настоящее время беспокоит дискомфорт в области левой половины грудной клетки без связи с физической нагрузкой, купирующийся самостоятельно в течение 10-15 мин, повышение АД до 180/120 мм рт.ст., снижающееся самостоятельно после приема ванны в течение 40 минут. При осмотре выявлена макроглоссия с отпечатками зубов по краям языка (Рисунок 6). Осмотрен неврологом, выявлен грубый симметричный, дистальный вялый тетрапарез, невозможность стоять на носках и на пятках, диффузная гипотрофия и гипотония мышц, арефлексия, полиневритический тип чувствительных нарушений, сенситивная атаксия.



Рисунок 6. Макроглоссия с отпечатками зубов по краям языка (а), деформация кистей рук – ревматоидоподобная кисть (б)

Figure 6. Macroglossia with imprints of teeth along the edges of the tongue (a), deformity of the hands - a rheumatoid-like hand (b)

В общем анализе крови обратили внимание на нормохромная нормоцитарная анемия. В биохимическом анализе крови общий белок 64 г/л, мочевины 9,8 ммоль/л, креатинин 119 мкмоль/л. Расчетная скорость клубочковой фильтрации (СКФ, СКД-EPI) составила 54 мл/мин/1,73м². В общем анализе мочи отклонений не выявлено. Анализ мочи на альбуминурию не проводился. На ЭКГ ритм синусовый, ЧСС 58 ударов в мин., отклонение электрической оси сердца вправо, низкий вольтаж комплекса QRS в прекардиальных отведениях. Зубец QS в II, V2 отведениях, нарушение внутрижелудочковой проводимости.

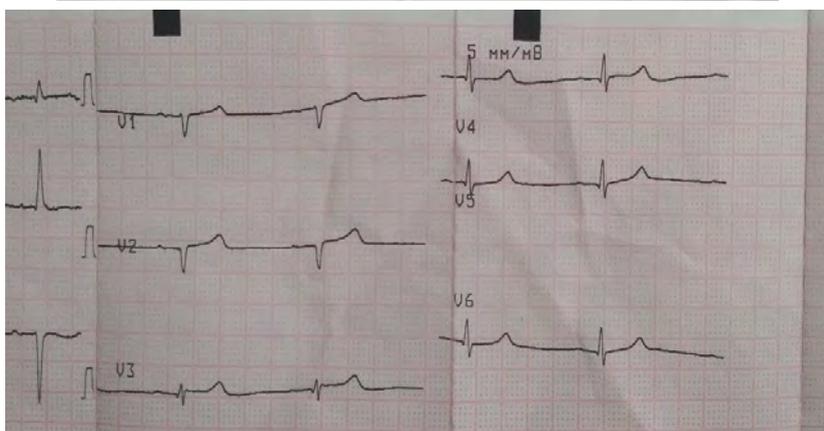
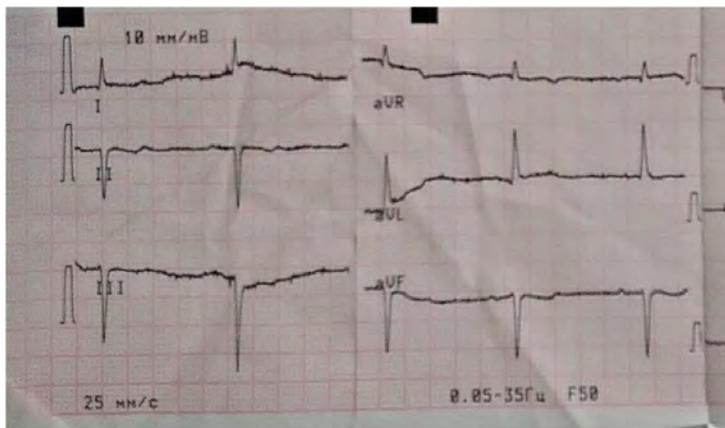


Рисунок 7. ЭКГ пациента Г. ЧСС 58 ударов в мин., отклонение электрической оси сердца вправо, низкий вольтаж комплекса QRS в прекардиальных отведениях. Зубец QS в II, V2 отведениях, нарушение внутриведочковой проводимости.

Figure 7. ECG of patient G. Heart rate 58 beats per minute, deviation of the electrical axis of the heart to the right, low voltage of the QRS complex in the precordial leads. QS wave in II, V2 leads, intraventricular conduction disturbance.

При Холтеровском мониторировании ЭКГ зарегистрировано 3 эпизода неустойчивой тахикардии с широкими комплексами QRS, самый длительный из 8 комплексов с частотой 201 в минуту. Зарегистрировано 2 эпизода элевации сегмента ST до 0,2 мВ по 3му каналу.(Рисунок 7)

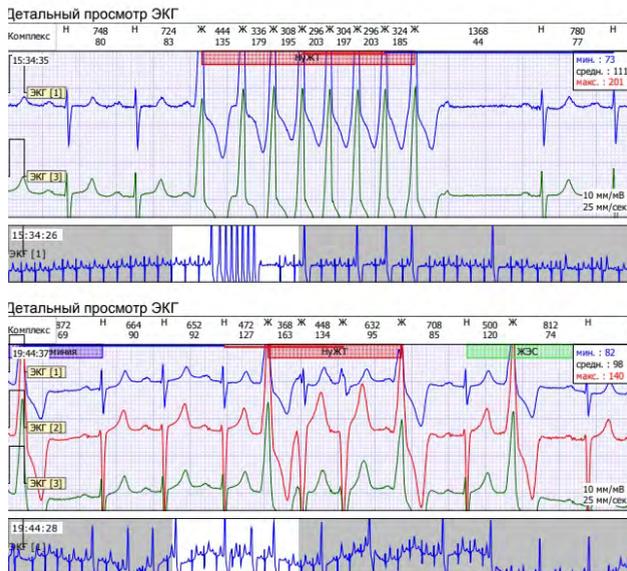


Рисунок 8. Холтеровское мониторирование ЭКГ эпизод неустойчивой тахикардии с широкими комплексами QRS из 8 комплексов с частотой 201 в минуту.

Figure 8. Holter ECG monitoring of an episode of non-sustained tachycardia with wide QRS complexes of 8 complexes at a rate of 201 per minute.

При суточном мониторировании АД среднее систолическое АД 132 и 117 мм рт.ст., среднее диастолическое АД 88 и 78 мм рт.ст. в дневные и ночные часы соответственно, степень ночного снижения систолического АД — 12%, диастолического АД — 11%. Индекс времени нагрузки по систолическому АД 37% и 33%, индекс времени нагрузки по диастолическому АД 43% и 57% в дневные и ночные часы соответственно.

При эхокардиографии выявлена концентрическая гипертрофия левого желудочка (ЛЖ) до 2,9 см, утолщение межпредсердной перегородки (0,96 см); гипертрофия правого желудочка до 0,95 см; фракция выброса ЛЖ 63,7%, дилатация левого предсердия (индекс объема: 45,7 мл/м²), диастолическая дисфункция I типа. Зернистость миокарда ЛЖ. Отложение амилоида в створках митрального клапана. Митральная и трикуспидальная регургитация I степени. Незначительное количество жидкости в полости перикарда.

При УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства выявлены признаки диффузных изменений неувеличенной печени, поджелудочной железы, полипа желчного пузыря, спленомегалия; кисты правой почки.

При КТ головного мозга выявлены признаки атеросклероза внутренних сонных артерий.

При молекулярно-генетическом анализе в экзоне 2 гена транстретина выявлен патогенный вариант с.148G>A (p.Val50Met, p.V50M в гетерозиготном состоянии, в связи с чем диагностирован наследственный ATTR-амилоидоз. Пациенту рекомендована длительная патогенетическая терапия тафамидисом.

Таким образом, клинические проявления амилоидоза многообразны и неспецифичны, что часто приводит к поздней диагностике заболевания. Для ускорения диагностики и адекватной терапии данного заболевания необходима своего рода «амилоидонастороженность» клиницистов. Внедрение современных подходов к диагностике и терапии амилоидоза позволят улучшить качество и увеличить продолжительность жизни пациентов с этой патологией.

Список литературы:

1. Резник, Е.В., Лазарев, В.А., Борисовская, С.В., Голухов, Г.Н.: Фибрилляция предсердий и сердечная недостаточность в дебюте AL-амилоидоза. Архив Внутренней Медицины. 11, 457–465 (2021). <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2021-11-6-457-465>
2. Резник, Е.В., Нгуен, Т.Л., Борисовская, С.В., Брылев, Л.В., Желнин, А.В., Сексаяв, Н.Е.: Клинический случай наследственного транстретинового амилоидоза. Архив Внутренней Медицины. 11, 229–240 (2021)

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей

Аннотация.

Патология сетчатки, особенно макулярной ее части связана с потерей зрения и инвалидизацией. Поэтому поиск оптимального способа контроля зрительных функций таких больных и метода эффективного лечения являются весьма актуальными. В данном исследовании предложен новый метод оценки состояния центрального поля зрения больных с глаукомой.

Важнейшим аспектом остается ранняя диагностика доклинических проявлений глаукомной оптической нейропатии. Одно из решений этой проблемы лежит в области совершенствования методов оценки функциональных нарушений, возникающих в сетчатке глаза. Изучена возможность метода микропериметрии сетчатки для ранней диагностики глаукомы, когда степень поражения слоя нервных волокон носит лишь функциональный, а не органический характер. Установлено, что микропериметрия с достаточной точностью позволяет проследить наиболее ранние функциональные изменения слоя нервных волокон при глаукоме.

Ключевые слова: микропериметрия, МР-1 микропериметр, светочувствительность, дифференциальная диагностика, глаукома.

New technologies for the analysis of functional visual impairment in patients with glaucoma.

Kantarzhi E.P.

Annotation.

Pathology of the retina, especially its macular part, is associated with loss of vision and disability. Therefore, the search for the optimal way to control the visual functions of such patients and the method of effective treatment are very relevant. This study proposes a new method for assessing the state of the central visual field of patients with glaucoma.

The most important aspect remains the early diagnosis of preclinical manifestations of glaucoma optic neuropathy. One of the solutions to this problem lies in the field of improving methods for assessing functional disorders that occur in the retina of the eye. The possibility of the method of retinal microperimetry for the early diagnosis of glaucoma, when the degree of damage to the layer of nerve fibers is only functional, and not organic, has been studied. It is established that microperimetry with sufficient accuracy allows to trace the earliest functional changes in the layer of nerve fibers in glaucoma.

Keywords: microperimetry; MP-1 microperimeter, photosensitivity, differential diagnostics, glaucoma.

Глаукома, несмотря на значительный прогресс в методах диагностики и лечения, остается одной из главных причин потери зрения и необратимой слепоты. В распоряжении офтальмологов имеется целый ряд исследований, необходимых для выявления и подтверждения диагноза глаукома. Однако их проведение зачастую позволяет выявить лишь продвинутые стадии заболевания. [4-6]

Поэтому важнейшим вопросом остается ранняя диагностика доклинических проявлений глаукомной оптической нейропатии. Одно из решений этой проблемы лежит в области совершенствования методов оценки функциональных нарушений слоя нервных волокон, возникающих в результате воздействия глаукомного процесса, и предшествующих органическим изменениям. [7,8]

Одной из таких методик является микропериметрия сетчатки. Сообщения о возможности применения микропериметрии в диагностике глаукомы в отечественной и зарубежной литературе носят единичный характер. [1-3]

Цель исследования: определить, у пациентов, страдающих глаукомой разной степени тяжести, существование порога чувствительности в макулярной и перипапиллярной зонах сетчатки с использованием микропериметрии для оценки связи между порогом чувствительности и тяжестью поражения сетчатки.

Материалы и методы.

В данной работе проведен анализ светочувствительности сетчатки больных глаукомой, разной степени тяжести.

Исследования проводились на приборе MP-1 фирмы Nidek technologies (Vigonza, Italy). Микропериметрия представляет собой комбинированное использование компьютерной периметрии и фундус-камеры, что позволяет соотнести видимые дефекты на глазном дне (анатомию) и дефекты в поле зрения (функцию).[9-13,14-16]



Рис. 1 Внешний вид микропериметра и консоли управления

Для исследования центральной светочувствительности применялась программа «Glaucoma 19° 10dB», при которой тестируются 24 точки в зоне до 19 градусов от точки фиксации с использованием стимула размером 0,43 градуса (Goldmann III) и длительностью 200 мс. Светочувствительность в норме составляет 18-20 децибел.

В данной программе 24 центральных точек в пределах 19° от точки фиксации расставлены в виде расходящихся конусов к зонам Бьерума. Этот же тест используется для анализа функционального состояния парапапиллярной зоны вокруг диска зрительного нерва. Результат исследования представляется в виде карты светочувствительности, наложенной на картину глазного дна. Для осуществления заявляемого способа вычисляется центральная светочувствительность и глубина дефектов в центральных 24 точках в пределах 19° от центра сетчатки, а также в парапапиллярной зоне. Среднее значение светочувствительности и глубина дефектов высчитывается прибором автоматически.

На рис.2 представлен пользовательский дизайн теста.

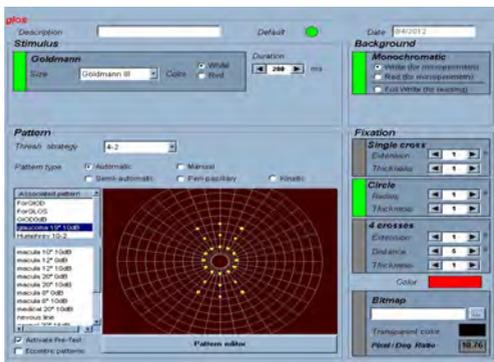


Рис.2 Интерфейс программного обеспечения МР-1

В заключение проводилось фотографирование глазного дна под углом 45 градусов с последующим наложением на него данных микропериметрии. Время проведения одного исследования от 4 до 7 мин. В зависимости от состояния сетчатки и возможности уверенной фиксации взгляда пациентом.

Статистический анализ данных проведен с применением пакета прикладных программ STATISTICA (ППП STATISTICA 7.0).

Микропериметрия проводилась на 331 глазу (мужских – 141, женских – 190). Средний возраст пациентов составил $61,4 \pm 12,9$ год (от 29 до 84 лет). В контрольную группу вошли 36 глаз здоровых добровольцев и 121 глаз пациентов с подозрением на глаукому. Основная группа составила 174 глаза, из которых 70 – глаукома I ст., 65 – II ст, 39 – III ст.



Рис. 3 Состав исследуемых пациентов

Исследование осуществляли следующим образом. Перед проведением исследования давалось подробное объяснение пациенту всех шагов предстоящей процедуры и проведение тренировочного исследования в течение 5 минут. Микропериметрия проводится в условиях затемненной комнаты. Пациент обследовался в положении сидя, лоб и подбородок располагался на упорах. Взгляд пациента был фиксирован на крестообразной метке или метке в виде кольца, и его позиция контролировалась для получения на экране монитора изображения макулы в течение всего исследования. [11,12]. Анализ результатов исследований позволил выявить наиболее интересные направления в изучении возможностей использования микропериметрии для диагностики тяжести глаукомы и эффективности лечебных воздействий у пациентов с глаукомой.

Результаты и обсуждения.

Проведенное исследование степени функциональных нарушений макулярной и перипапиллярной зоны сетчатки у пациентов в исследуемых группах позволило выявить ряд следующих закономерностей, которые представлены в таблице 1.

Чувствительность и глубина дефектов макулярной области (MZ) и парапапулярной зоны сетчатки (PPZ)

заболевание	Кол-во глаз	Чув. MZ	Дефект MZ Me(-)	Чув. PPZ	Дефект PPZ Me(-)
		dB Me		dB Me	
Здоров	35	18,3	2,6	11,3	1,6
Глаукома 1 ст.	70	16,2	3,1	9,4	3,0
Глаукома 2 ст.	64	13,9	5,1	9,0	5,1
Глаукома 3 ст.	38	7,5	9,1	2,7	8,9
Подозрение на глаукому	121	17,2	2,4	9,8	2,1

На графике (Рис.4) наглядно представлены результаты и линейные линии тренда.

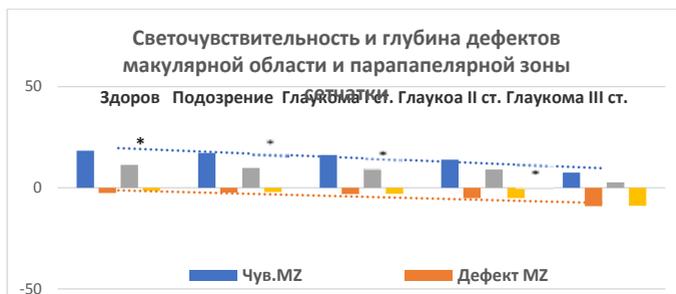
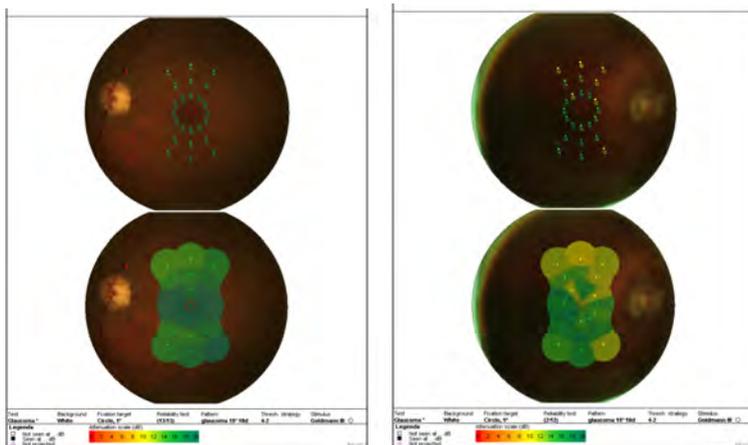


Рис.4 Светочувствительность и дефекты в изучаемых группах пациентов (* - значимые различия между группами ($p < 0,05$))

Проведенный анализ показал значимое различие ($p < 0,05$) между группами с глаукомой разной степени, а также между нормой и глаукомой 1 ст. При сравнении групп нормы и подозрения, значимым оказался только показатель Чув. MZ ($p = 0,018$). При сравнении групп с подозрением и глаукомой 1 ст. : $p = 0,001$ для Чув. MZ и $p = 0,003$ для Дефектов MZ. При корреляции по Спирмену получили незначительную величину корреляции катаракты с чувствительностью и глубиной дефекта (-0,32 и -0,31 соответственно). Проведенный анализ показал наличие взаимосвязи с возрастом (порядка -0,3). Высокая корреляция данных показателей обнаружена с диагнозом (-0,6). Был проведен анализ фиксации, который у всех пациентов диагностировал стабильность фиксации (порядка 85%). Анализ результатов исследований позволил выявить наиболее интересные направления в изучении возможностей использования микропериметрии для диагностики тяжести глаукомы, эффективности лечебных воздействий у пациентов с глаукомой.

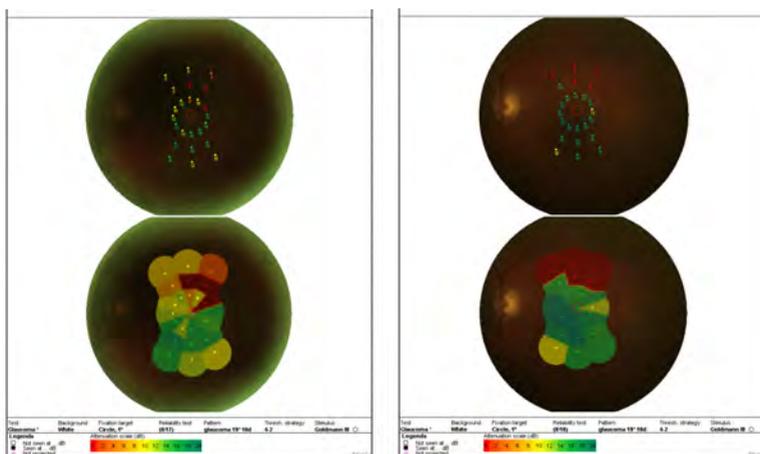
Протоколы исследования формировались как в количественном выражении светочувствительности сетчатки в каждой исследуемой точке поля зрения, так и в виде томограммы, где наглядно представлена макулярная и парапапулярная патология сетчатки (Рис 5-7).



а)

б)

Рис. 5 Протоколы исследования : а) Здоров, б) Подозрение на глаукому



а)

б)

Рис. 6 Протоколы исследования : а) Глаукома I ст., б) Глаукома II ст.

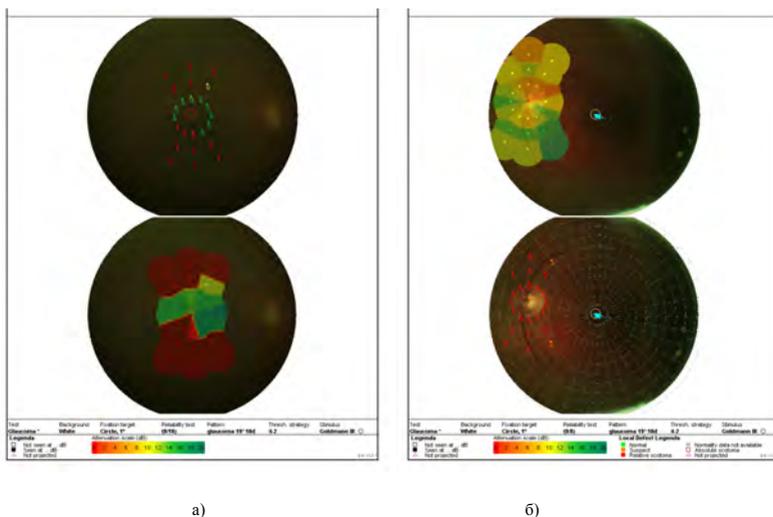


Рис. 7 Протоколы исследования: а) Глаукома III ст., б) Нарушение светочувствительности в парапапилярной зоне сетчатки.

Проведенные исследования на микропериметре позволили оценить порог светочувствительности сетчатки в любой ее конкретной точке и перенести эти данные на изображение глазного дна. Исследуя светочувствительность сетчатки в перипапилярной зоне также можно судить о функциональных изменениях зрительного анализатора, развившихся в результате воздействия глаукомного поражения.

Таким образом, микропериметрия позволяет оценить порог светочувствительности сетчатки в любой ее конкретной точке и перенести эти данные на изображение глазного дна.

Выводы

1. Оценена возможность метода микропериметрии сетчатки для ранней диагностики глаукомы, когда степень поражения слоя нервных волокон носит лишь функциональный, а не органический характер. Установлено, что микропериметрия с достаточной точностью позволяет проследить наиболее ранние функциональные изменения слоя нервных волокон при глаукоме.
2. Получены предельные значения показателей функционального состояния сетчатки у пациентов с глаукомой, которые можно рекомендовать для дифференциальной диагностики тяжести течения заболевания.

Заключение

Таким образом, в ходе исследования было установлено, что микропериметрия является высокотехнологичным и эффективным методом анализа функциональных нарушений зрения у пациентов с глаукомой, с достаточной точностью позволяет проследить наиболее ранние функциональные изменения слоя нервных волокон приданной патологии.

Микропериметрия с успехом может дополнить оптическую когерентную томографию, поскольку она дает более точную и раннюю оценку степени патологических изменений.

Список литературы

1. Дога А.В., Качалина Г.Ф., Педанова Е.К. Возможности микропериметрии в ретиальной лазерной хирургии. // Новейшие достижения в лечении и диагностике глазных заболеваний: Материалы 11 ежегодной конференции. — М., 2007. — С. 12-13.
2. Иойлева Е.Э., Кривошева М.С. Микропериметрия при оптическом неврите вследствие рассеянного склероза. Офтальмохирургия. 2016;3:77–80. DOI: 10.18008/1816–5095–2018–2S-246–253.
3. Лисочкина А.Б., Нечипоренко П.А. Микропериметрия: преимущества метода и практическое применение. Офтальмологические ведомости. 2019;2(1):19–22.
4. Павлова А.Ю., Горбунова Н.Ю., Золотова Ю.В. Микропериметрия в ранней диагностике глаукомы / Вестник ОГУ №14 (133), 2011
5. Сердюкова, С. А. Компьютерная периметрия в диагностике первичной открытоугольной глаукомы / С. А. Сердюкова / Офтальмологические ведомости. - 2018. - Т. 11, № 1. - С. 54-60
6. Худонов, А. А. Функциональные методы исследования в ранней диагностике первичной открытоугольной глаукомы / А. А. Худонов / Сибирский медицинский журнал. - 2012. - Т. 108, № 1. - С. 21-23.
7. Шпак, А. А. Сравнительный анализ результатов микропериметрии и традиционной периметрии в норме / А. А. Шпак / Вестник офтальмологии. - 2009. - Т. 125, № 3. - С. 31-35
8. Юрьева, Т. Н. Периметрические и ОСТ критерии структурно-функционального состояния зрительного нерва в определении стадии глаукомной нейропатии / Т. Н. Юрьева / Федоровские чтения - 2009 : научно-практическая конференция с международным участием, 8-я : сборник тезисов. - Москва, 2009. - С. 281-282.
9. Carpineto P., Ciancaglini M., Di Antonio L., et al. Fudus microperimetry patters in type 2 diabetic patients with diffuse macular edema. // Retina. — 2007.-Vol. 27.-P. 21-29.
10. Chalam K.V., Shah V.A. Liquid crystal display microperimetry in eyes with reduced visual acuity from macular pathology. // Indian J. Ophthalmol. — 2004. -Vol. 52.-P. 293-296.
11. Mídena E. Microperimetry. // Arch. Soc. Esp. Oftalmol. 2006. - Vol. 81.-P. 183-186.
12. Mídena E., Radin P. P., Pilotto E. et al. Fixation pattern and macular sensitivity in eyes with subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. A microperimetry study // Semin. Ophthalmol. — 2004. — Vol. 19. — P. 55–61.
13. Rohrschneider K., Bultmann S., Springer C. Use of fundus perimetry (microperimetry) to quantify macular sensitivity. // Prog. Retin. Eye Res. -2008. Vol. 27. - P. 536-548.
14. Romano M.R., Angi M., Romano F. Macular sensitivity change in multiple sclerosis followed with microperimetry. // Eur. J. Ophthalmol. 2007. -Vol. 17.-P. 441-444.
15. Sabates N.R. The MP-1 Microperimeter/ Clinical applications in retinal pathologies. //Highlights of ophthalmology. -2006. Vol. 33. - P. 12-17.
16. Sawa M., Gomi F., Toyoda A., et al. A microperimeter that provides fixation pattern and retinal sensitivity measurement. // Jpn. J. Ophthalmol. — 2006.-Vol. 50.-P. 111-115.

Скрябина А.А., Никифоров В.В., Шахмарданов М.З., Бурова С.В.

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, кафедра инфекционных болезней лечебного факультета

Резюме

Установлено, что полиморфизм ряда генов-кандидатов может оказывать влияние на показатели фармакокинетики и фармакодинамикмакролидов, что может объяснить различия в показателях эффективности и безопасности терапии у разных пациентов. В связи с существующей проблемой гетерогенности профиля безопасности макролидов, поиск предикторов безопасности терапии приобретает существенное практическое значение.

Ключевые слова: макролиды; нежелательные лекарственные реакции; НЛР; фармакогенетика; персонализированная медицина.

Pharmacogenetics of macrolide antibiotics: perspectives for personalized therapy

Skryabina A.A., Nikiforov V.V., Shakhmardanov M.Z., Burova S.V.

N.I. Pirogov Russian State Medical University, Department of Infectious Diseases, Medical Faculty

Summary

It was determined that polymorphisms of a number of candidate genes can affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of macrolides that may explain differences in the therapy efficacy and safety rates in different patients. Due to the existing problem of macrolides' safety profile heterogeneity, the search for predictors of therapy safety acquires significant practical importance.

Keywords: macrolides; adverse drug reactions; ADRs; pharmacogenetics; personalized medicine.

На сегодняшний день в этиологической структуре пневмонийно из ведущих мест занимает *Mycoplasma pneumoniae*. *M. pneumoniae* занимает промежуточное положение между вирусами, бактериями и простейшими, являясь мембранно-ассоциированным микроорганизмом. Можно сказать, что это уникальный клеточный паразит, способный к самостоятельному делению и к длительной персистенции в клетках эпителия, лимфоузлов, тонком кишечнике, тем самым способствуя сенсибилизации организма и утяжеляя течение неспецифических заболеваний респираторного тракта. Проявления микоплазменной инфекции крайне разнообразны: возможны как субклиническое течение заболевания, так и манифестные формы, проявляющиеся в том числе лимфопролиферативным синдромом [Разуваев О.А., 2018].

Препаратами выбора для лечения микоплазменной инфекции на современном этапе являются макролиды. Механизм их действия связан с проникновением в пораженную клетку и нарушением синтеза белков клетках микроорганизма. Одной из существенных проблем антибиотикотерапии в РФ является широко распространенная практика применения антимикробных препаратов без учета современных данных о фармакокинетики и профиле безопасности этих лекарств [Барденикова С.И. с соавт., 2012]. В то же время, известно, что применение макролидов может быть сопряжено с развитием нежелательных лекарственных реакций (НЛР). По данным программы СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи (российские клинические рекомендации), к числу наиболее типичных НЛР, возникающих на фоне применения макролидов, относятся тошнота, снижение аппетита, диарея, головная боль,

транзитное повышение трансаминаз, холестатический гепатит, а также флебит при в/в введении. К числу редких, но опасных для жизни НЛР, относятся пароксизмальная желудочковая тахикардия и увеличение риска внезапной смерти (для эритромицина и азитромицина); некроз печени. Следует отметить значительные различия как в частоте, так и в структуре НЛР, возникающих при применении различных макролидов: частота НЛР варьирует от 2 до 17% в зависимости от используемого лекарства и обычно находится в прямой зависимости от его дозы [Синопальников А.И., Андреева И.В., Стецюк О.У., 2012].

На сегодняшний день, при назначении антибиотиков целесообразно учитывать не только резистентность микроорганизмов к ним, но и генетически детерминированную активность ферментов, принимающих участие в фармакокинетике и фармакодинамике конкретного антибиотика у конкретного пациента [Смирнов А.П. с соавт., 2019]. Таким образом, требуется проведение фармакогенетических исследований с учётом клинических, фармакометаболических, фармакотранскриптомных и фармакокинетических данных у пациентов, принимающих макролиды, для формирования доказательной базы с целью разработки рекомендаций по персонализированному подбору безопасной дозы лекарственного средства.

Считается, что абсорбции макролидов в кишечнике способствует Р-гликопротеин (ABCB1), который кодируется геном *ABCB1*. Кроме того, считается, что ABCB1 опосредует экскрецию макролидов с желчью. Макролиды гидрофобны, благодаря чему хорошо проникают в ткани и биологические жидкости. Попав в кровоток, макролиды связываются с альфа-1-кислотным гликопротеином (AGP), кодируемым геном *ORM1*. Эритромицин связывается с AGP в плазме на 70-80%, в то время как азитромицин – лишь на 7%. Макролиды концентрируются в фагоцитах и транспортируются ими к очагу инфекции. Уровни концентрации кларитромицина и азитромицина в фагоцитах превышают их концентрации в сыворотке в 400 и 800 раз соответственно. В то же время, уровни концентрации макролидов в тканях в 50 раз превышают величины их концентрации в плазме[Fohneretal., 2017].

Извлечение эритромицина и кларитромицина из портальной вены в гепатоциты опосредуется поглощающими транспортерами, которые экспрессируются на синусоидальной мембране – в частности, органическим анион-транспортным полипептидом 1В1 (OATP1B1, кодируется геном *SLCO1B1*) и органическим анион-транспортным полипептидом 1В3 (OATP1B3, кодируется геном *SLCO1B3*). Эритромицин подвергается экстенсивному метаболизму в печени, главным образом – при участии изофермента *CYP3A4*; при этом 80% лекарственного средства инактивируется путем N-деметилирования. Около 60% эритромицина экскретируется с желчью и около 40% – с мочой, основным метаболитом является N-деметилэритромицин. Кларитромицин также интенсивно (на 78%) метаболизируется в печени путём окислительного N-деметилирования и гидроксирования при участии изоферментов *CYP3A4*, *CYP3A5* и *CYP3A7* до неактивного метаболита N-деметилкларитромицина и активного метаболита 14-(R)-гидроксиэритромицина[Fohneretal., 2017]. Кларитромицин на 20-30% выводится почками в неизменённом виде и на 10-15% – в виде метаболитов.

Изменчивость генов, кодирующих переносчики лекарств и метаболизирующие ферменты, может привести к разной выраженности ответа на медикаментозную терапию у разных людей. Установлено, что носительство полиморфизмов в генах *ABCB1* и *ABCC2* влияет на транспорт и клиренс эритромицина [Lancasteretal., 2012]. По данным исследований, у пациентов с диплотипами 2677GG (*rs2032582*) и 3435CC (*rs1045642*) гена *ABCB1* отмечаются более высокие максимальные концентрации азитромицина по сравнению с пациентами с диплотипами 2677TT/3435TT. У пациентов-носителей генотипа TT по полиморфизму *rs717620* гена *ABCC2* может наблюдаться повышенный клиренс эритромицина по сравнению с пациентами-носителями генотипов CC и CT. Различия в уровнях концентрации AGP, обусловленные вариациями в гене *ORM1*, кодирующем AGP, могут влиять на уровень концентрации несвязанного циркулирующего лекарственного средства: при этом более низкая концентрация AGP сопряжена с повышенной концентрацией несвязанного лекарственного средства, что приводит к изменениям в его распределении и клиренсе. OATP1B1 опосредует транспорт эритромицина и кларитромицина в гепатоциты, и носительство полиморфного варианта *SLCO1B1*5* (*rs4149056*), согласно опубликованным данным, приводит к снижению транспорта эритромицина на 50% [Lancasteretal., 2012]. Кроме того, носительство полиморфизмов гена *SLCO1B3* сопряжено с изменениями количества накапливающегося в печени эритромицина: так, носительство полиморфизма *rs4149117* сопряжено с увеличением активности белка-переносчика и повышенным поглощением эритромицина гепатоцитами. Носительство полиморфизмов гена *CYP3A4* также может оказывать влияние на метаболизм макролидов.

В целом доступные данные, касающиеся фармакокинетики и фармакодинамики макролидов, позволяют предполагать, что генотипическая изменчивость влияет как на их транспорт, так и на метаболизм. Имеющиеся различия в

структуре макролидов влекут за собой отличия в степени влияния генетических полиморфизмов: так, например, эритромицин взаимодействует с большим количеством белков, чем азитромицин, структура которого обуславливает отличия в механизмах транспорта и метаболизма данного лекарственного средства. В результате азитромицин меньше взаимодействует с белками, в меньшей степени подвержен генотипической изменчивости и обладает повышенной активностью в отношении грамотрицательных бактерий вследствие более высоких уровней концентрации в тканях. Кларитромицин, обладающий более высокой активностью против некоторых штаммов бактерий по сравнению с азитромицином, в то же время в большей степени подвержен межлекарственным взаимодействиям и генотипической изменчивости.

Заключение.

Следует отметить, что на сегодняшний день фармакогенетика антибиотиков из группы макролидов мало изучена [Fohner A.E. et al., 2017]. В то же время установлено, что полиморфизм ряда генов-кандидатов может оказывать влияние на показатели фармакокинетики и фармакодинамики макролидов, что может объяснить различия в показателях эффективности и безопасности терапии у разных пациентов. В связи с существующей проблемой гетерогенности профиля безопасности макролидов поиск предикторов безопасности терапии приобретает существенное практическое значение. С учётом этого, выглядит обоснованным проведение дальнейших исследований для более тщательного изучения полиморфизма генов, кодирующих ферменты биотрансформации и белки-транспортеры макролидных антибиотиков. Это позволит разработать алгоритм индивидуального подхода к оптимизации терапии макролидами, что позволит снизить частоту возникновения нежелательных лекарственных реакций макролидов у пациентов.

Список литературы:

1. Разуваев О.А. Диагностика и профилактика пневмоний микоплазменной этиологии у детей. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора. Москва, 2018.
2. Барденикова С.И., Зайцева О.В., Локшина Э.Э., Матковская Е.А., Громадина О.В., Шкляева И.В. Макролиды в лечении бактериальных осложнений острых респираторных заболеваний у детей. Фарматека. 2012. № 53. С. 12-16.
3. Синопальников А.И., Андреева И.В., Стецюк О.У. Безопасность макролидных антибиотиков: критический анализ. Клиническая медицина. 2012. Т. 90. № 3. С. 23-30.
4. Смирнов А.П., Шамкина П.А., Кривопапов А.А., Янов Ю.К., Шнайдер Н.А., Незнанов Н.Г., Кравцов В.В., Насырова Р.Ф. Персонализированный подход к применению макролидов в лечении осложненных форм острых бактериальных риносинуситов. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2019. Т. 25. № 3. С. 60-72.
5. Fohner AE, Sparreboom A, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: macrolide antibiotic pathway, pharmacokinetics/pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*. 2017 Apr;27(4):164-167. doi: 10.1097/FPC.0000000000000270.
6. Lancaster CS, Bruun GH, Peer CJ, Mikkelsen TS, Corydon TJ, Gibson AA, Hu S, Orwick SJ, Mathijssen RH, Figg WD, Baker SD, Sparreboom A. OATP1B1 polymorphism as a determinant of erythromycin disposition. *Clin Pharmacol Ther*. 2012 Nov;92(5):642-50. doi: 10.1038/clpt.2012.106.

ТЕЗИСЫ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ НЕОКИСЛЕННЫХ И ОКИСЛЕННЫХ БИСРЕТИНОИДОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ В КЛЕТКАХ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Яковлева М.А.¹, Островский Д.С.², Хубецова М.Х.²,

Борзенко С.А.², Островский М.А.^{1,3}, Фельдман Т.Б.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, ул.Косыгина, 4

²ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени С.Н. Федорова, 127486 Москва, Бескудниковский бульвар, 59а

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, 119234 Москва, Ленинские горы, 1

Липофусциновые гранулы (ЛГ) в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) глаза человека содержат бисретиноиды - флуорофоры, способные при поглощении видимого света генерировать активные формы кислорода с образованием, в конечном итоге, окисленных продуктов (окси-БисРет), в состав которых входят альдегиды и кетоны, способные диффундировать из ЛГ и модифицировать белковые молекулы уже в отсутствие света. В данной работе были проведены эксперименты по исследованию цитотоксичных свойств окси-БисРет в темновых условиях с использованием клеточной культуры АРПЭ-19, нагруженной ЛГ. Сравнительный анализ исходных образцов и предварительно облученных видимым светом показал, что в обоих случаях в клетках РПЭ после темновой адаптации в течение 4-х суток запускается апоптоз как по митохондриальному, так и по каспазному пути, однако в случае предварительно облученных образцов с более высоким содержанием окси-БисРет этот процесс проходит заметно интенсивнее. Таким образом, можно предположить, что окси-БисРетоказывают цитотоксическое воздействие на клетку РПЭ в отсутствие света и могут рассматриваться как отягощающий фактор прогрессирования возрастной макулодистрофии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом (грант № 22-24-00549).

ДЕГИДРОТЕРМИЧЕСКИЙ КРОССЛИНКИНГ СТРОМАЛЬНЫХ ГРАФТОВ РОГОВИЦЫ СВИНЬИ: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ОСНОВНЫЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Попов И. А.^{1,4}, Анисимов С. И.^{1,2}, Балашова Л. М.^{3,4}

¹Глазной центр «Восток-Прозрение», Москва, Россия

²Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

⁴НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей

Цель. Оценить влияние дегидротермического кросслинкинга стромальных роговичных трансплантатов при температурах 60, 100, 140, 180 и 220°C на их принципиальную возможность использования в кератопластике.

Материал и методы. Из глаза свиньи (<12 ч после смерти) иссекали корнеосклеральный диск, из которого удаляли эпителий и десцеметову мембрану, высушивали и высекали 10-мм центральный роговичный графт. Сухие графты (n=36) были разделены на 6 групп по 6 образцов: в пяти группах их выдерживали в вакууме в течение 3 суток при 60, 100, 140, 180, 220°C; 6 группа — необработанный контроль; затем графты погружали в фосфатно-солевой буфер на 24 часа. Оценивались следующие параметры: внешний вид, качество изображения с расстояния 5 м, светопропускание, влагосодержание, центральная толщина, нагрузка разрыва швом. Тест на эпителизацию проводили ex vivo в органной культуре свежей роговицы свиньи при культивировании в течение 3 суток.

Результаты. Режим 220°C вызывал обугливающее разрушение материала. Трансплантаты после 180°C стали значительно слабее, чем нейлоновая нить 10-0. В диапазоне 60-140°C нагрузка разрыва швом значительно снизилась с 913 г (контроль) до 137 г (140°C). Дегидротермическая обработка увеличила светопропускание графтов с 30% (контроль) до 75% (140°C); толщина в центре уменьшилась с 3000 мкм (контроль) до 320 мкм (140°C), влагосодержание упало с 94% (контроль) до 44% (140°C). Субъективное качество изображения графтов после обработки при 60, 100 и 140°C повышалось, и графты позволяли различать опто типы 0,3, 1,0 и 1,0 десятичной таблицы для проверки зрения, соответственно. В органной культуре контрольные графты и графты после обработки при 60 и 100°C были покрыты клетками эпителия. Поверхность образцов после 140-градусной обработки оставалась гладкой без клеток.

Выводы.

1. Графты после дегидротермической обработки при температуре 220 и 180°C принципиально не пригодны к использованию в офтальмохирургии.
2. Графты после обработки 140°C не проходят тест на эпителизацию.
3. Графты после 100°C и ниже могут использоваться в кератопластике.

СИНДРОМ ОСТРОГО ЛИЗИСА ОПУХОЛИ У ДЕТЕЙ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

Акимов В.П.¹, Матинян Н.В.^{1,2}, Валиев Т.Т.¹, Милутис Р.В.¹, Тухватуллина Р.Р.¹.

¹НИИ Детской онкологии и гематологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГБОУ «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Синдром острого лизиса опухоли (СОЛО) является одним из наиболее грозных и частых неотложных состояний у пациентов с онкогематологическими заболеваниями.

Поскольку это состояние сопровождается высокой летальностью без проведения интенсивной терапии, крайне важно выявить пациентов с высоким риском развития синдрома лизиса опухоли и начать раннюю профилактическую терапию. Быстрая и ранняя диагностика метаболических, почечных и сердечно-сосудистых дисфункций, обусловленных СОЛО, способствуют своевременному началу терапии и предотвращают фатальные осложнения.

Данное жизнеугрожающее состояние, в условиях быстрого темпа развития химиотерапии опухолей, в настоящее время не потеряло своей актуальности, а наоборот, требует к себе ещё большего внимания научного сообщества.

ТАКТИКА И СРОКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА У ДЕТЕЙ

Кузнецова Ю.Д.¹, Асташева И.Б.², Хаценко И.Е.³, Балашова Л.М.², Порядин Г.В.², Салмаси Ж.М.²
ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Пирогова, Москва¹, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Москва², ГБУЗ Морозовская ДГКБ ДЗ г. Москвы³, НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей⁴

Tactics and terms of surgical treatment of the syndrome primary persistent hyperplastic vitreous in children

Kuznetsova Yu.D.^{1,4}, Astasheva I.B.², Hacenko I.E.³, Balashova L.M.^{2,4}, Poryadin G.V.², Salmasi G.M.²

The Russian children's clinical hospital of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia¹; Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia²; Morozov children's city clinical hospital of Department of Health protection in Moscow, Moscow, Russia³

Синдром первичного персистирующего гиперпластического стекловидного тела (ППГСТ) - редкая врожденная аномалия, связанная с нарушением процесса регресса первичного эмбрионального стекловидного тела. Целью нашего исследования было определить оптимальную тактику и сроки лечения синдрома первичного персистирующего гиперпластического стекловидного тела у детей. Сроки, объем и целесообразность проведения оперативного лечения при ППГСТ зависят от степени и формы данного заболевания. В 100% случаев при I и II степенях ППГСТ, в 91,0% % при III степени ППГСТ была проведена имплантация интраокулярной линзы в капсульный мешок. При III и IV степени ППГСТ необходимо проведение оперативного лечения в возрасте до 1 года с органосохранной целью, с целью профилактики развития вторичных осложнений.

СРОКИ ФИКСАЦИИ КОМБИНИРОВАННОЙ БИОКОНСТРУКЦИИ С КЛЕТКАМИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЛИМБАЛЬНО-КЛЕТОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Целя Т. В., Ченцова Е. В., Боровкова Н. В., Сторожева М. В., Макаров М. С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России,

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

Зона лимба играет важную роль в процессе регенерации роговицы при ее повреждении, так как содержит расположенные в полисадах Фогта лимбальные эпителиальные стволовые клетки (ЛЭСК), за счет пролиферации, дифференцировки и миграции которых восстанавливается целостность роговичного эпителия. Кроме того, лимб является барьером, препятствующим распространению эпителия конъюнктивы на роговицу. Повреждение зоны лимба приводит к развитию состояния, получившего название лимбально-клеточной недостаточности, которое характеризуется рецидивирующими или персистирующимися эрозиями, нарастанием на роговицу эпителия конъюнктивы с формированием фиброваскулярного паннуса, что в конечном итоге приводит к значительному снижению остроты зрения, хроническому болевому синдрому, светобоязни, слезотечению.

В настоящее время существует несколько эффективных хирургических методов лечения ЛНК, основанных на пересадке ауто- и аллотрансплантатов из зоны лимба (роговично-конъюнктивальная аутоотрансплантация, роговично-конъюнктивальная аллотрансплантация), трансплантация культивированных на разных носителях ауто и аллолимбальных клеток. Однако все эти методики не лишены недостатков. Так, применение лимбальных аутоотрансплантатов повышает риск развития ятрогенной ЛНК на здоровом глазу, а при двустороннем тотальном поражении зоны лимба применение данного способа вообще невозможно. При использовании аллогенного материала требуется длительное применение иммуносупрессивных препаратов. Принимая во внимание эти недостатки, перспективным направлением является создание новых способов лечения ЛНК, основанных на применении стволовых клеток из аутологичных тканей других структур. Одним из таких вариантов стал эпителий слизистой оболочки полости рта (буккальный эпителий).

**ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМЫ, СОЧЕТАННОЙ С АНОМАЛИЯМИ РАЗВИТИЯ
ПЕРЕДНЕГО ОТДЕЛА ГЛАЗА**

Кузнецова Ю.Д.¹, Асташева И.Б.², Зверева А.Н.¹, Хащенко И.Е.², Балашова Л.М.², Салмаси Ж.М.²

ОСП РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Пирогова, Москва¹,

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Москва²

Surgical treatment of the congenital glaucoma with the anomaly in the development of the anterior segment of the eyeball.

Kuznetsova Yu.D.¹, Astasheva I.B.², Zvereva A.N.¹, Balashova L.M.², Hascenko I.E.², Salmasi Zh.M.²

The Russian children's clinical hospital of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia¹; Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia²

По классификации врожденной глаукомы (Аветисов Э.С., Ковалевский Е.И., Хватова А.В., 1987 год) II форма – это глаукома, сочетанная с аномалиями развития переднего отрезка глаза (микрофтальм, микрокорнея, аномалия/синдром Ригера, Аксенфельда, аномалии Петерса, склерокорнея, аниридия, эссенциальная мезодермальная дистрофия радужки, колобома радужки, синдром Франка-Каменецкого, синдром Марфана, синдром Марчезани). По данным литературы при врожденной глаукоме, сочетанной с аномалиями развития переднего отрезка глаза, как правило, офтальмотонус повышается в более старшем возрасте. Однако в последние годы повысился процент ранней манифестации врожденной глаукомы у детей с аномалиями переднего отрезка глаза. Лучшие результаты после проведения оперативного лечения нами были получены у детей именно с ранней манифестацией данной формы глаукомы.

Всем детям были проведены операции фильтрующего типа : трабекулотомия с синусотрабекулэктомией или глубокая склеректомия. У большинства детей ВГД нормализовалось после однократного оперативного вмешательства.

**ОРГАНИЗАЦИЯ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ. СИСТЕМА
КАТАМНЕСТИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РЕТИНОПАТИЕЙ НЕДОНОШЕННЫХ НА БАЗЕ
ВТОРОГО УРОВНЯ ГОРОДСКОЙ ПОЛИКЛИНИКИ В СВАО Г. МОСКВЫ**

Лесовой С.В., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М.

ОСП РДКБ ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Пирогова, Москва,
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия

Готова к представлению многолетняя статистика работы кабинета катамнеза ДГП 125 Москвы в СВАО. На данный момент данный кабинет является единственным на втором уровне амбулаторной помощи в г. Москва.

**ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ГЛАУКОМЫ НА ОСНОВЕ ВЫЯВЛЕННЫХ ИММУНОГЕМОСТИЧЕСКИХ
МЕХАНИЗМОВ**

Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Гришин В.Л., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М.

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава
России, г. Москва;

НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей,

ГБУЗ 1 градской клинической больницы ДМО им. Н.И.Пирогова Минздрава России,

г. Москва, Россия

Произведено исследование общего и локального цитокинообразования аутоантителообразования приоткрытоугольной,

смешанной и закрытоугольной глаукомах. Обнаружено увеличение выработки аутоантител (нДНК, дДНК, коллагену II типа, коллагену IV типа, ОБМ), значительное увеличение уровней цитокинов (ИЛ-6 и ФНО-альфа) в сыворотке крови и, прежде всего, в слезе при всех видах глауком, повышение значенийТФР бета1 и VEGF при закрытоугольной глаукоме. При нарушениях локального иммунитета доказаны изменения со стороны фибринолитической системы слезы.

ОБЪЕКТИВНАЯ ПРОВЕРКА ОСТРОТЫ ЗРЕНИЯ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Хаценко И.Е., Балашова Л.М., Салмаси Ж.М.

ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ»,

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России,
г. Москва, Россия

Представлен новый объективный метод оценки остроты зрения по пороговому зрительному регистрируемому потенциалу (ПЗВП) у пожилых больных. Для оценки остроты зрения на практике традиционно используются таблицы различного дизайна, содержащие различные опто типы букв, фрагменты текста, геометрические фигуры, синусоидальные решетки. Когда пациенту предъявляется определенный опто тип, на его ответ влияет ряд субъективных факторов: качество изображения опто типа, способность к чтению и воспроизведению, порой эмоциональное состояние и зрительные астенопические жалобы. Разработан новый способ объективного определения остроты зрения, основанный на выявлении порогового зрительного регистрируемого потенциала. Предлагается регистрация ПЗВП устойчивого состояния на различные угловые размеры стимула, мощность спектра ПЗВП определяется на частоте 8 Гц. Острота зрения соответствует тому размеру вертикальных полос, на которые еще регистрируется ответ.

ПЕРВИЧНАЯ ЗАКРЫТОУГОЛЬНАЯ ГЛАУКОМА – АУТОИММУННЫЙ ПРОЦЕСС

Бакунина Н.А., Новиков А.А., Балашова Л.М.

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава
России, г. Москва;

НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей,

ГБУЗ 1 градской клинической больницы ДМО им. Н.И. Пирогова Минздрава России,
г. Москва, Россия

ГБУЗ Московский научный клинический центр им. А.С. Логинова ДЗМ

С помощью метода непрямой иммунофлюоресценции на препаратах НEr-2-клеток проводили скрининг на антинуклеарные факторы с указанием титров выявленных антител. При скрининге остатков сывороток крови на антинуклеарные факторы определялись низкие титры антинуклеарных антител- от 1/160 до 1/320. С высокой вероятностью это подтверждает аутоиммунный процесс при ПЗУГ.

УШЛИ ИЗ ЖИЗНИ, НО НАВСЕГДА ОСТАЛИСЬ С НАМИ



Профессор-инфекционист

Харламова Флора Семеновна

Флора Семеновна Харламова – профессор кафедры инфекционных болезней у детей педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, доктор медицинских наук, врача-педиатр высшей категории, врача-инфекционист.

Вся ее жизнь – пример преданности выбранной профессии. Закончив в 1974 г. 2МОЛГМИ и интернатуру, Флора Семеновна работала врачом педиатром и заведовала отделением неотложной детской помощи Тимирязевского района г. Москвы. После окончания ординатуры работала в 1980-1984 гг. ординатором и зав. инфекционным отделением ГКБ №4, где и начала научно-исследовательскую работу по теме: «Клинико-патогенетическое значение системы мононуклеарных фагоцитов при вирусном гепатите В у детей», которая завершилась защитой кандидатской диссертации в 1987 г. Затем Ф.С. Харламова работала старшим научным сотрудником академической группы академика РАМН Н. И. Нисевич при НИИ педиатрии РАМН, совмещая

научную работу с педагогической деятельностью на кафедре детских инфекций РГМУ им. Н. И. Пирогова с 2001 г. в должности доцента, а с 2003 г. – профессора кафедры.

Сфера ее научных интересов была достаточно объемной: проблемы диагностики, клиники и лечения вирусных гепатитов у детей, острых респираторных заболеваний. В последние годы научные исследования Флоры Семеновны были посвящены поражению сердечно-сосудистой системы и ЦНС при герпесвирусных инфекциях и микоплазмозе. Ф. С. Харламова – автор более 200 печатных работ, из них 30 учебно-методических пособий, атласа-руководства «Инфекционные болезни» и 8 авторских свидетельств и патентов на изобретения. В 2017 г. Ф. С. Харламовой было присвоено звание «Лучший педагог года». Флора Семеновна являлась членом Союза педиатров России, Ассоциации педиатров-инфекционистов, заместителем главного редактора журнала «Детские инфекции», членом редколлегии журнала «Педиатрия», долгие годы руководила Инфекционной секцией Московского общества педиатров.

Флора Семеновна была очень образованным, цельным и интеллигентным человеком, отзывчивой, неравнодушной, сильной, делилась своим опытом и знаниями со студентами, коллегами, пациентами. Умела заинтересовать окружающих, слитость, была очень инициативна и работоспособна. Пользовалась уважением среди коллег, студентов, родителей пациентов. Флора Семеновна всю себя отдавала делу своей жизни – медицине, работая до последнего дня, несмотря на болезнь. Была счастлива на работе и в семье, которая была ей поддержкой, воспитала прекрасную дочь и двух внуков.

Для своих коллег Флора Семеновна запомнится как человек с высокими душевными качествами, талантливый врач, преподаватель, ученый.



Профессор-биофизик

Намиот Владимир Абрамович

Немного на Земле людей, обладающих такими широкими и уникальными способностями, какие были у Владимира Абрамовича Намиота...



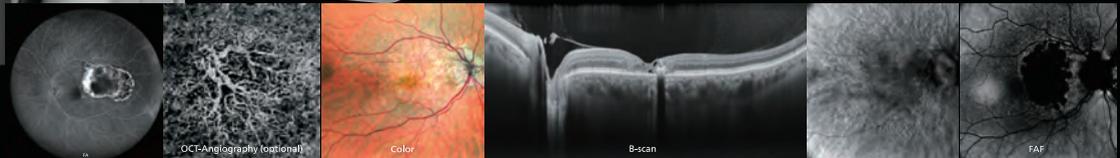
Сканирующий лазерный офтальмоскоп Mirante



Мультимодальная универсальная ультра 4K HD система для визуализации глазного дна и переднего сегмента. Mirante позволяет использовать несколько различных технологий визуализации в одном приборе: оптическая когерентная томография (OCT) с высоким разрешением и конфокальный сканирующий лазерный офтальмоскоп (cSLO), обе технологии с возможностью ультраширокой визуализации; OCT - ангиография (OCTA); цветная фотография глазного дна, флюоресцентная (FA) и индоцианин-зеленая ангиография (ICGA); аутофлуоресценция глазного дна (FAF) в зеленом и синем свете; ретро режим.

cSLO имеет 4 отдельных лазерных источника, способных проникать на разную глубину, что позволяет использовать их в разных технологиях диагностики. Синий лазер участвует в формировании цветного изображения глазного дна, используется для FAF в синем свете и при FA. Зеленый лазер участвует в формировании цветного изображения глазного дна и используется для FAF в зеленом свете. Красный лазер участвует в формировании цветного изображения глазного дна и используется в системе фиксации. Инфракрасный лазер применяется для визуализации в ретро-режиме (создание псевдо-3D изображения), для инфракрасной визуализации глазного дна и для ICGA.

Благодаря программному обеспечению NAVIS-EX возможно интегрировать данные, полученные с помощью системы Mirante, с другими диагностическими приборами компании NIDEK.



Mirante
FA/ICG/OCT



Компания МД ВИЖН
эксклюзивный дистрибьютор NIDEK Co. Ltd
в России и странах СНГ
117312, Россия, Москва, ул. Губкина, д.14
Тел.: +7 (495) 988-22-67 (многоканальный)
www.nidek.ru



И.К. Айвазовский. Ниагарский водопад

ISBN 978-5-6049091-0-2



9 785604 909102