

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Нурланбаева Алия Ергалиевна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
МАРКЕРОВ ФИБРОЗИРОВАНИЯ
ФИЛЬТРАЦИОННЫХ ПОДУШЕК
ПРИ РЕФРАКТЕРНОМ ТЕЧЕНИИ
ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

14.01.07 – глазные болезни

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор биологических наук,
профессор С. В. Айдагулова
доктор медицинских наук,
профессор О. Г. Гусаревич

Новосибирск – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ТКАНЕВЫЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕМЕНТОВ ДРЕНАЖНОЙ СИСТЕМЫ ГЛАЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)....	11
1.1. Лимфатические сосуды глаза и эндотелиальные клетки в норме, адаптации компенсации.....	12
1.2. Структурно-функциональная характеристика матрикс- продуцирующих клеток и их производных в норме и при глаукоме.....	20
1.3. Структурные основы рефрактерности глаукомы и методы визуализации дренажной системы глаза.....	25
1.4. Клеточные основы методов коррекции офтальмотонуса.....	24
1.5. Резюме.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Дизайн исследования.....	38
2.2. Методы светооптического и электронно-микроскопического исследования соединительной ткани склеры.....	39
2.3. Иммуногистохимическое исследование соединительной ткани склеры.....	41
2.4. Метод ультразвуковой биомикроскопии фильтрационных подушек.....	43
2.5. Методы ретроспективного статистического анализа антиглаукомного лечения пациентов.....	46
ГЛАВА 3. СВЕТООПТИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИ- ЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СКЛЕРЫ И УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФИЛЬТРАЦИОННЫХ ПОДУШЕК В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ МЕСТНЫХ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ.....	50
3.1. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследование клеточных элементов и волокон склеры у впервые оперированных пациентов.....	50
3.2. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследование клеточных элементов и волокон склеры у повторно оперированных пациентов.....	57

3.3. Результаты ультразвуковой биомикроскопии зоны оперативного вмешательства при рефрактерной глаукоме в условиях применения местных гипотензивных средств.....	68
3.4. Резюме.....	78
ГЛАВА 4. ЭКСПРЕССИЯ CD34 И ФИБРОНЕКТИНА В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СКЛЕРЫ ПО ДАННЫМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПАРАФИНОВЫХ СРЕЗОВ.....	79
4.1. Особенности экспрессии CD34 эндотелиоцитами коллекторных канальцев у впервые оперированных пациентов с глаукомой.....	80
4.2. Характер экспрессии фибронектина во внеклеточном матриксе склеры у впервые оперированных пациентов с глаукомой.....	83
4.3. Особенности экспрессии CD34 эндотелиальными клетками коллекторных канальцев при рефрактерном течении глаукомы.....	86
4.4. Характер экспрессии фибронектина во внеклеточном матриксе склеры при рефрактерном течении глаукомы.....	89
4.5. Результаты оценки содержания фибронектина по данным автоматического анализа изображения.....	92
4.6. Резюме.....	93
ГЛАВА 5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕСТНЫХ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ..	94
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	112
ВЫВОДЫ	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	134
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	157

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Шлеммов канал, коллекторные каналы и водяные вены являются структурными элементами лимфодренажной системы глаза и, наряду с соединительнотканными компонентами трабекулярной сети, играют важную роль в механизмах поддержания нормального офтальмотонуса [13; 54; 211; 163; 108]. Значение лимфодренажа и дисфункция лимфоидных элементов продемонстрированы при различных процессах, связанных с нарушением структурно-функциональных свойств межклеточного матрикса [64; 51; 12]. Кроме того, в последние годы все большее значение придают развитию клеточных технологий, призванных решать задачи конструирования биологических эквивалентов различных тканей и органов [71; 174; 196].

Трабекулярная сеть и шлеммов канал обеспечивают основную фильтрацию внутриглазной жидкости (ВГЖ), поэтому они несут главную ответственность за возрастание резистентности оттоку и повышение внутриглазного давления (ВГД), ассоциированных с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ). Глаукома – хроническая прогрессирующая оптическая нейропатия с дефектами полей зрения занимает второе место среди причин необратимой слепоты во всем мире [40; 43; 60; 44; 20; 106].

Ведущим фактором риска в развитии ПОУГ является повышенное ВГД, генерируемое в системе циркуляции ВГЖ в переднем сегменте глаза. ВГЖ секретируется непигментированным цилиарным эпителием и течет в угол передней камеры глаза, откуда фильтруется трабекулярной сетью в шлеммов канал [104; 218]. При ПОУГ увеличено сопротивление прохождению ВГЖ в трабекулярной сети, особенно в юкстаканаликулярной соединительной ткани, что и приводит к повышению ВГД [15; 48; 107; 211]. В возрастании резистентности трабекулярной сети к оттоку ВГЖ при ПОУГ важную роль играют изменения экстрацеллюлярного матрикса [228].

Для лечения глаукомы, основной целью которого является снижение уровня ВГД, применяют местную антигипертензивную терапию и оперативное лечение с

созданием искусственных путей оттока ВГЖ. Долгосрочный успех операции зависит от пред- и интраоперационных условий, но в первую очередь определяется эффективностью фильтрации вновь созданных путей оттока ВГЖ [85]. Поэтому в клинической практике послеоперационное наблюдение за развивающейся фильтрационной подушкой является важным инструментом в достижении целевого ВГД у большого процента пациентов с антиглаукомными операциями [111; 142].

Ускоренное фиброзирование в зоне антиглаукомного вмешательства является базисом структурных изменений склеры, препятствующих функционированию искусственно созданных путей оттока ВГЖ и компенсации ВГД. Высокая активность матрикс-продуцирующих клеток лежит в основе прогрессирования глаукомного процесса, предикторы которого важны для прогнозирования развития ранней послеоперационной гипертензии и при исследовании причин повышения офтальмотонуса в отдаленные сроки после операции [4; 6; 20; 41; 153; 209; 228].

Среди методов профилактики слабосидения и слепоты у пациентов с ПОУГ важны объективные методы клинического обследования, позволяющие выявить характер нарушения зрительных функций, а также оценить структурно-функциональные изменения органа зрения после антиглаукомных операций с целью своевременного назначения гипотензивных лекарственных средств или проведения оперативного вмешательства [117].

Для прогнозирования эффективности антиглаукомных операций применяют метод ультразвуковой визуализации путей оттока ВГЖ – ультразвуковую биомикроскопию (УБМ) [52; 86].

Рефрактерное течение ПОУГ характеризуется ускоренным рубцеванием зоны оперативного вмешательства и сокращением периода компенсации уровня ВГД, что требует проведения повторных хирургических вмешательств для предотвращения прогрессирования глаукомного процесса [9; 78].

Неудовлетворительные результаты оперативного лечения пациентов с рефрактерной ПОУГ индуцируют изучение клеточных и молекулярных

механизмов ускоренного рубцевания фильтрационных подушек склеры [228].

В межоперационном периоде пациентам назначают местную моно- или комбинированную гипотензивную терапию, состоящую преимущественно из аналогов простагландинов, антагонистов β -адренорецепторов (β -блокаторов) и ингибиторов карбоангидразы, а также α -адренергических агонистов и М-холиномиметиков. Благодаря их комплементарности в снижении ВГД, препараты используют в различных сочетаниях, в том числе в виде комбинированных лекарственных форм [24; 38; 79; 213], однако проблема выбора медикаментозной терапии в межоперационном периоде для пациентов с рефрактерной ПОУГ и ее влияние на характер рубцевания фильтрационных подушек остаются недостаточно изученными [194].

Цель исследования

По данным гистологического изучения соединительнотканых элементов склеральных лоскутов и на основе визуализации с помощью ультразвуковой биомикроскопии провести анализ фиброзирования фильтрационных подушек при рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы в условиях применения местных гипотензивных препаратов различных групп.

Задачи исследования

1. На основе светооптического и электронно-микроскопического исследования склеральных лоскутов, полученных в ходе глубокой склерэктомии, изучить ультраструктурные особенности эндотелиоцитов лимфатических сосудов глаза при рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы и у впервые оперированных пациентов.

2. С помощью световой и электронной микроскопии исследовать матрикс-продуцирующие клетки и волокна соединительной ткани склеры при рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы и у впервые оперированных пациентов.

3. По результатам двухшагового стрептавидин-биотинового иммуногистохимического исследования парафиновых срезов склеральных лоскутов оценить экспрессию биомаркера CD34 в эндотелиоцитах сосудов склеры

при первичной открытоугольной глаукоме.

4. По результатам применения автоматизированной системы анализа изображений оценить уровень экспрессии фибронектина в экстрацеллюлярном матриксе склеры при первичной открытоугольной глаукоме.

5. Изучить фильтрационные подушки с помощью ультразвуковой биомикроскопии, визуализирующей искусственно созданные пути оттока внутриглазной жидкости, при рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы в условиях применения местных гипотензивных препаратов различных групп.

6. Провести ретроспективный статистический анализ эффективности местной медикаментозной терапии у пациентов с рефрактерным течением первичной открытоугольной глаукомы и перед первичной антиглаукомной операцией.

Научная новизна

С помощью двухшагового стрептавидин-биотинового иммуногистохимического исследования парафиновых срезов изучена экспрессия биомаркеров CD34 и фибронектина и структурные изменения в зоне антиглаукомного оперативного вмешательства при декомпенсированном ВГД у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ.

У впервые оперированных пациентов экспрессия CD34 имела место в эндотелиальных клетках и перицитах коллекторных канальцев дренажной системы глаза, сочетаясь с расширением их просветов. Экспрессия фибронектина имела экстрацеллюлярный характер, приурочена к водяным венам и повышена при увеличении числа фибробластов. Наиболее выраженная экспрессия CD34 и фибронектина отмечена у пациентов без медикаментозного лечения, менее значимая – при монотерапии аналогами простагландинов.

При рефрактерном течении ПОУГ относительно большее количество CD34-позитивных клеток выявлено при применении β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы, что прямо коррелировало с визуализируемыми с помощью УБМ разлитыми фильтрационными подушками. Экспрессия

фибронектина более значительна в образцах склеры пациентов при монотерапии аналогами простагландинов или β -блокаторами, наименьшая – при применении β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы или с аналогами простагландинов.

На основе УБМ-анализа зоны антиглаукомного оперативного вмешательства с акцентом на применении нескольких вариантов местной гипотензивной терапии показано недостижение целевых значений ВГД у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ по сравнению с ПОУГ с компенсируемым ВГД, что сопровождалось достоверно ($p \leq 0,01$) низкими УБМ-показателями высоты фильтрационной подушки и интрасклеральной полости.

Ретроспективный статистический анализ 1 197 глаз пациентов с ПОУГ, в том числе с рефрактерным течением, не выявил достоверного влияния местной гипотензивной терапии на достижение целевого ВГД при рассмотрении без учета и с учетом стадии глаукомы.

Практическая значимость. Клинико-морфологический анализ фиброзирования фильтрационных подушек у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, применяющих для снижения уровня ВГД местные гипотензивные препараты различных групп, продемонстрировал особенности структурных изменений в склере, в том числе пролиферативные реакции эндотелиоцитов лимфатических капилляров (коллекторных канальцев). С теоретической точки зрения, при ПОУГ обнаружена экспрессия CD34 (маркера кровеносных сосудов) элементами лимфатической системы глаза.

Предпринят поиск новых маркеров фиброзирования фильтрационных подушек в результате антиглаукомных операций, в том числе у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, что имеет значение для поиска новых антиглаукомных средств и методов. По данным визуализации с помощью УБМ и на основе изучения экспрессии молекулярно-биологических маркеров в склеральных лоскутах, показана позитивная роль комплексных гипотензивных препаратов без участия аналогов простагландинов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В соединительной ткани склеры при ПОУГ наибольший уровень

экспрессии биомаркеров CD34 и фибронектина имеет место при отсутствии местного гипотензивного лечения, несколько меньший – при монотерапии аналогами простагландинов; при применении других гипотензивных схем лечения экспрессия снижена или отсутствует.

2. При рефрактерном течении ПОУГ наибольшее количество CD34-позитивных эндотелиальных клеток выявлено при применении β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы, что прямо коррелировало с визуализируемыми с помощью УБМ разлитыми фильтрационными подушками. Экспрессия фибронектина в экстрацеллюлярном матриксе соединительной ткани склеры более значительна при предоперационной монотерапии аналогами простагландинов или β -блокаторами.

3. При рефрактерном течении ПОУГ, по сравнению с наблюдениями с компенсируемым ВГД, в условиях нескольких вариантов местной гипотензивной терапии при ультразвуковой биомикроскопии зоны оперативного вмешательства выявлены достоверно низкие показатели высоты фильтрационной подушки и интрасклеральной полости ($p \leq 0,01$).

Апробация работы

Результаты исследования представлены на 5-й Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Авиценна-2014» (Новосибирск, 2014); на телеконференции «Актуальные вопросы офтальмологии» между городами Москва, Новосибирск, Саратов и Тюмень (Саратов, 2014); на научно-практической конференции, посвященной 20-летию курса офтальмологии ФПК и ППС СибГМУ «Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения» (Томск, 2014) и на расширенном заседании проблемных комиссий «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» и «Патология сенсорных систем организма», а также сотрудников кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии и кафедры офтальмологии Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2014).

Внедрение

Результаты исследования склеральных лоскутов при ПОУГ внедрены в курс практических занятий по частной гистологии по теме «Соединительная ткань глаза» на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии Новосибирского государственного медицинского университета и в курс лекций и практических занятий кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии в раздел «Соединительная ткань» АО «Медицинский Университет Астана». Данные по лечению рефрактерной глаукомы внедрены в учебный процесс отдела постдипломного образования Казахского ордена «Знак Почета» НИИ глазных болезней (г. Алматы) по циклу «Глаукома» и курс лекций на кафедре офтальмологии Новосибирского государственного медицинского университета.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 166 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 3 глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 9 таблиц и 54 рисунков. Указатель литературы представлен 243 источниками, из которых 157 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в оперативном лечении и заборе материала у пациентов с глаукомой в качестве ассистента. Лично проанализированы 650 историй болезни пациентов с ПОУГ, собран клинический материал, произведена его статистическая обработка и анализ полученных результатов. Лично проведены гистологические исследования. Опубликованные работы написаны автором или при непосредственном его участии.

ГЛАВА 1. ТКАНЕВЫЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕМЕНТОВ ДРЕНАЖНОЙ СИСТЕМЫ ГЛАЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Дренажный аппарат глаза обеспечивает фильтрацию внутриглазной жидкости (ВГЖ) и состоит из трабекулярной сети, внутренней склеральной борозды, шлеммова и коллекторных канальцев, а также водяных вен. Прежде, чем попасть в шлеммов канал, ВГЖ, продуцируемая цилиарным эпителием, просачивается сквозь трабекулярную сеть угла передней камеры глаза. В трабекулярном аппарате выделяют три морфологически и функционально разнородных отдела: увеальный, корнеосклеральный и юкстаканаликулярный [15], степень выраженности которых имеет некоторые индивидуальные различия и вносит вклад в предрасположенность к развитию глаукомы.

Шлеммов канал, коллекторные канальцы и водяные вены в норме обеспечивают отток ВГЖ и являются элементами лимфодренажной системы переднего отрезка глаза. Лимфатические сосуды выстланы эндотелием без базальной мембраны, локализуясь в плотной соединительной ткани. При глаукоме сосуды не выполняют свои дренажные функции, и хирурги-офтальмологи создают так называемую «фильтрационную подушку», иссекая склеральный лоскут для создания путей оттока ВГЖ.

Следует отметить, что при действии различных неблагоприятных факторов адаптивные и компенсаторные реакции реализуются в двух противоположно направленных биологических процессах – разрушении тканевых и клеточных структур и их регенерации, направленной на ликвидацию последствий этого разрушения и восстановление гомеостаза [69; 34]. По мнению И. В. Давыдовского (1969), «только в патологии раскрывается вся панорама нормальных, или физиологических, процессов», что позволяет «глубже, в биологическом аспекте, осмыслить медицинские проблемы» [19].

1.1. Лимфатические сосуды глаза и эндотелиальные клетки в норме, адаптации и компенсации

В углу передней камеры глаза ВГЖ просачивается в трабекулярный аппарат [67], представления о гистологических особенностях которого характеризуются некоторыми противоречиями, в том числе неясны критерии деления трабекул на слои, характер и степень прочности связи этих слоев с окружающими структурами. Это приводит к различиям в описании топографии трабекулярной сети: с одной стороны, отмечена чрезвычайная тонкость, рудиментарность увеального отдела, с другой стороны, увеальной считается значительная часть трабекулярной сети, соединяющаяся с цилиарным телом в обход склеральной шпоры [15; 219].

Корнеосклеральный отдел построен из почти параллельных соединительнотканых пластин-трабекул, покрытых эндотелиальными клетками и связанных между собой перекладинами, формирующими отверстия размерами 5–50 мкм. Слои пластин переплетены таким образом, что отверстия в соседних слоях не совпадают. По направлению к шлеммову каналу циркулярное направление волокон и отверстий постепенно утрачивается, отверстия редуцируются, трабекулы истончаются [89]. С возрастом толщина трабекулярных пластин значительно возрастает.

Юкстаканаликулярная соединительная ткань распространяется вдоль всего шлеммова канала; она ограничена, с одной стороны, эндотелием трабекул, с другой – эндотелием шлеммова канала, который прочно соединен с подлежащей юкстаканаликулярной соединительной тканью при помощи отростков эндотелиальных клеток и фибрилл, соединяющих базальные мембраны клеток эндотелия шлеммова канала с коллагеновыми волокнами юкстаканаликулярной ткани [15]. Учитывая структурно-функциональную взаимосвязь юкстаканаликулярной ткани (ЮКТ) с эндотелием шлеммова канала и трабекул, описано три слоя в этом отделе дренажной системы: трабекулярный эндотелий – как продолжение корнеосклеральных трабекул; центральный слой рыхлой

соединительной ткани; эндотелий внутренней стенки шлеммова канала, отличающийся от эндотелия трабекул и от эндотелия наружной стенки склерального синуса выступающими перикарионами, выростами люминальной поверхности и гигантскими вакуолями [108; 139].

Основным вопросом в исследовании оттока ВГЖ является изучение того, какие факторы контролируют дренаж жидкости в шлеммов канал. Менее половины нормального сопротивления оттоку ВГЖ наблюдается в трабекулярной сети, и оно возрастает при ПОУГ. Главными анатомическими барьерами оттока являются большая протяженность эндотелиальной выстилки шлеммова канала и подлежащая ЮКТ. Механизмы входа ВГЖ в канал неизвестны. Предполагают, что они включают внутри- и трансцеллюлярные пути через гигантские вакуоли в эндотелиальной выстилке, нарастая синхронно ВГД. Значимость гигантских вакуолей противоречива, так как был предположен альтернативный путь входа ВГЖ в канал – межклеточный путь. Жидкость или протекает непосредственно через гигантские вакуоли, или вакуоли служат для того, чтобы растянуть эндотелиальные клетки и ослабить межклеточные контакты [119; 193].

Отмечена выраженная вариабельность распределения гигантских вакуолей: некоторые регионы шлеммова канала имеют несколько вакуолей, хотя другие регионы – много вакуолей. Если гигантские вакуоли представляют области с активным дренажом ВГЖ, эта вариабельность показывает, что не вся внутренняя стенка непосредственно участвует в дренаже ВГЖ. Формирование гигантских вакуолей объясняют следующим образом: они могут образовываться сверх путей жидкости в пределах ЮКТ и трабекулярной сети; они могут формироваться в регионах низкого сопротивления «по току жидкости», таких как устья коллекторных канальцев в шлеммовом канале; или они могут образовываться в регионах наибольшего наполнения или растяжения внутренней стенки, что может наблюдаться вместе с сокращением цилиарной мышцы [139; 193].

Юкстаканаликулярный отдел составляет наиболее наружную часть трабекулярного аппарата, прилежащую к шлеммову каналу, толщиной до 20 мкм, где собственно «трабекулы» отсутствуют, а ткань становится пористой. Эта зона

складывается из 2–5 клеточных слоев, погруженных в межклеточное вещество. Клетки обладают длинными отростками и соединяются между собой при помощи зон замыкания, десмосом и щелевых контактов. Между клетками определяются промежутки шириной 10 мкм, через которые ВГЖ проникает по направлению эндотелиальной выстилки шлеммова канала. Таким образом, отличительными особенностями этого слоя считаются пористая структура, соседство со шлеммовым каналом и тесная связь с эндотелием трабекул и склерального синуса [98; 105; 119].

Волокна ЮКТ формируют характерное переплетение с отверстиями и тоннелями, которые на тангенциальных срезах создают впечатление перфорированной структуры. Переплетение тонких коллагеновых и эластических фибрилл, заключенных в гомогенную основную субстанцию, и неравномерное распределение клеток этого слоя обуславливают неизбежность прямого контакта водянистой влаги с аморфным межклеточным веществом и волокнами [93; 221].

Увеальный, корнеосклеральный и юстаканаликулярный слои в совокупности образуют пористую пластинчатую структуру толщиной от 50 до 220 мкм, которая является динамическим биологическим фильтром, играющим ключевую роль в регуляции оттока ВГЖ. Клетки трабекул отличаются высокой синтетической активностью [204]. Они синтезируют материал базальных мембран, коллаген и внутри- и внеклеточные гликозаминогликаны: гепарансульфаты, гиалуроновую кислоту и дерматансульфаты. Трабекулярные клетки обладают высокой фагоцитарной активностью, поглощая зерна пигмента и другие частицы, количество которых увеличивается с возрастом. Введенные в эксперименте частицы (коллоидное золото, пероксидаза хрена, витальные красители) моментально фагоцитируются клетками и, таким образом, выводятся из ВГЖ [15].

В последние годы установлено, что трабекулярные клетки синтезируют многочисленные биологически активные вещества, участвующие в регуляции ВГД, в т.ч. простагландины F2 и E2, ингибитор тканевой и матриксной металлопротеиназы [143]. При этом их продукция и секреция нарастают при механической деформации клеток, что происходит при колебаниях ВГД [133; 210;

235; 242].

Основу центральной части («сердцевины») трабекулярных пластин составляют коллагеновые волокна диаметром 0,6–1,3 мкм, состоящие из сети коллагеновых фибрилл диаметром 40–60 нм, имеющих поперечную исчерченность. Коллагеновые волокна отделены друг от друга более тонкими волокнами, образованными спирально ориентированным коллагеном и эластином.

Главными компонентами межклеточного вещества являются коллаген I, III, IV, V и VI типов, фибронектин, хондроитин- и дерматансульфаты, а также гиалуроновая кислота и другие молекулы, например, фибриллин. Особенностью межклеточного вещества является наличие эластических волокон, образующих густую объемную сеть [91; 177]. Установлены различия фибриллярных белков в различных отделах трабекулярного аппарата: иммуногистохимически доказано наличие в трабекулах коллагена I и III типов, в юкстаканаликулярном слое – только III типа. Эластин же обнаруживается в трабекулах, но отсутствует в ЮКТ.

Свойства соединительной ткани в значительной мере определяются гликозаминогликанами двух типов: несulfатированных (гиалуроновая кислота) и sulfатированных (гепаран-, хондроитин-4 и -6-, а также дерматан-сульфаты). Основная функция гиалуроновой кислоты – связывание воды, она может полимеризоваться и деполимеризоваться в широких пределах, что влияет на проницаемость тканей [227].

Многие годы эндотелиальную выстилку сосудов рассматривали исключительно как селективный фильтр, как барьер между кровью и тканями, осуществляющий поступление питательных веществ и кислорода и обратное выведение продуктов метаболизма. Однако с внедрением метода культивирования эндотелиальных клеток было доказано, что биологическая роль эндотелия далеко не исчерпывается пограничной и транспортной функциями, хотя и связана с ними. Извилистость люминальной плазмолеммы увеличивает площадь поверхности эндотелия как «диссеминированного органа», как минимум, в 2 раза [7; 81; 84].

Эндотелиальные клетки и кровеносных, и лимфатических сосудов, на первый взгляд, выглядят гомогенной клеточной популяцией с упрощенной ультраструктурой цитоплазмы дифференцированных клеточных форм. В перикарионе, вблизи ядра, содержатся немногочисленные органеллы: митохондрии, цистерны цитоплазматической сети, аппарат Гольджи и везикулы. Длинные периферические цитоплазматические отростки эндотелиоцитов с единичными везикулами нередко истончены до размеров, лишь ненамного превышающих толщину двух плазмолемм. Морфологическое строение эндотелия несколько «усложняется» лишь в развивающихся и регенерирующих сосудах, когда его клетки приобретают так называемый синтетический фенотип [2; 8; 17; 82].

На плазмолеммах эндотелиальных клеток экспонируются многочисленные рецепторы, посредством которых реализуются различные функции эндотелия, основными из которых являются моделирование тонуса и структуры сосудистой стенки, контроль пролиферации других клеток, управление тромботическими и фибринолитическими процессами, адгезией тромбоцитов и лейкоцитов, а также регулирование уровня сосудистой проницаемости [37].

Для осуществления этих функций эндотелиальные клетки продуцируют вещества, вызывающие противоположные эффекты, например, активатор плазминогена и ингибитор активатора плазминогена, вазодилататоры и вазоконстрикторы (в частности, эндотелин). Субстанции, продуцируемые эндотелием, весьма многообразны: вазоактивные тканевые гормоны (дилататоры – эндонитрат NO, гиперполяризующий фактор, простагландин, брадикинин, гистамин, серотонин и др.; констрикторы – эндотелин, ангиотензин II, тромбоксан A₂ и др.), ингибирующие и индуцирующие модуляторы роста, модуляторы воспалительных реакций, регуляторы гемостаза и активаторы тромбоза (фактор Виллебранда, фибронектин и др.) [8].

В физиологических условиях в большинстве сосудов непосредственный контакт циркулирующих клеток крови с поверхностью эндотелиоцитов происходит редко. В то же время отдельные регионы сосудистой сети

характеризуются обязательным взаимодействием клеточных элементов крови и эндотелиального монослоя (альвеолярные капилляры легкого, посткапиллярные венулы лимфатических узлов), что не приводит к тромбообразованию. При повреждении эндотелия и обнажении субэндотелиального компартмента происходит быстрая адгезия тромбоцитов, которые, агрегируя, сплошным слоем закрывают раневую поверхность. Далее развивается каскад реакций, направленных, в первую очередь, на восстановление целостности эндотелиальной выстилки сосуда [29].

При сильном или длительном действии вазоактивных факторов, например, бактериальных и химических токсинов может нарушаться целостность эндотелиальной выстилки и базальной мембраны, с проникновением внутрь стенки из просвета сосуда компонентов плазмы, фибрина, форменных элементов крови. В исходе развиваются отек сосудистой ткани, плазморрагия вплоть до фибриноида, лейкоцитарная реакция – формируется экссудативное воспаление. Токсическое действие комплемента, цитокинов, лизосомных ферментов, перекисных радикалов сопровождается альтеративными процессами и некротическими изменениями, в том числе фибриноидным некрозом, что проявляется деструктивными формами васкулитов [29; 53].

Влияние эндотелия на окружающие ткани реализуется различными путями: эндотелиальные клетки синтезируют компоненты соединительной ткани и способны регулировать синтез этих компонентов другими клетками, с помощью эндотелия осуществляется регуляция тонуса гладких миоцитов и, следовательно, величина потока крови. Эндотелиальные клетки синтезируют вещества собственной базальной мембраны: фибронектин, тромбоспондин, коллаген (преимущественно IV типа), ламинин, эластин, гликозаминогликаны. Последние экспонируются на люминальной поверхности, где входят в состав гликокаликса, а также в экстрацеллюлярном матриксе [8].

Основную массу гликозаминогликанов составляют сульфатированные производные – гепаран, дерматан и хондроитин сульфаты. В составе протеогликанов гликозаминогликаны участвуют в пролиферации, миграции и

адгезии клеток, в метаболизме липидов. Недовоспроизводство или нарушение баланса структурных компонентов внеклеточного матрикса эндотелиоцитов обуславливает нарушение сосудистого гомеостаза [89; 228].

Иммуногистохимический маркер эндотелиальных клеток кровеносных сосудов CD34 – кластер дифференцировки 34, гликопротеин плазмолеммы с одиночным трансмембранным фрагментом, функции которого до конца не выяснены, однако этот белок экспрессируется при индукции ангиогенеза, участвует в механизмах межклеточной адгезии; CD34-позитивные клетки в различных тканях ассоциированы с низкодифференцированными клетками. Взаимодействуя с L-селектином, CD34 участвует в развитии воспаления; в целом, независимо от его функций, он способствует миграции стромальных клеток [163].

Активация клеток крови в условиях гипоксии при расстройствах микроциркуляции сопровождается выделением из них ряда цитокинов – мелких регуляторных полипептидов. Лейкоциты выделяют фактор некроза опухоли, интерлейкины, протеолитические ферменты, кислородные радикалы. Фактор некроза опухоли является сильным активатором нейтрофилов, увеличивает проницаемость сосудов; интерлейкин-1 стимулирует адгезию лейкоцитов к эндотелию и способствует вазодилатации [47; 98].

Показана ведущая роль повреждения кровеносных капилляров, повышения их проницаемости в острую фазу при гнойно-деструктивных поражениях легких [83]. При отсутствии специфических гистологических изменений сосудов. Характерно частичное расплавление эластических волокон стенок сосудов, образование в стадии затухания воспаления тонкостенных сосудистых полостей, перестройка сосудистого русла, сужение просвета. Блокада микроциркуляторного русла фибрином рассматривается как предотвращение генерализации инфекции.

Важная роль эндотелия показана в развитии атеросклероза, причем состояние сосудистой стенки играет не меньшую роль, чем нарушения липидного обмена [27]. В условиях физиологической и репаративной регенерации нормальной соединительной ткани, а также в некоторых медленно растущих опухолях мягких тканей, наибольшей способностью синтезировать

рибонуклеиновые кислоты обладают клетки стенки мельчайших сосудов и перициты [33]. Известен феномен трансформации микрососудов в соединительнотканной основе нормальной кожи человека, при ее растяжении, а также в грануляционной ткани человека и экспериментальных животных: клеточные элементы микрососуда являются источником образования новых клеточных элементов соединительной ткани, причем эта трансформация лежит в основе как физиологической, так и репаративной регенерации [69].

Это доказывает мезенхимное происхождение и полипотентность клеток стенки микрососудов, дающих начало различным более специализированным клеткам: фибробластам, адипоцитам, остеобластам. Роль их предшественника принадлежит перициту, являющемуся источником физиологического обновления соединительной ткани [65], репаративной регенерации различных ее видов, а также опухолевого роста. Следовательно, сосуды являются не только транспортно-питающей, но и центральной генерирующей структурой соединительной ткани.

Старение организма сопровождается уплотнением стенок и сужением просвета артериальных сосудов различного калибра и капилляров, которые могут быть обусловлены торможением регенерации в связи с дефицитом пластических ресурсов. Еще одним фактором, обуславливающим тканевую гипоксию, является гиалиноз артериол, возникающий при некоторых хронических заболеваниях, сопровождающих старение [30]. При инволютивных процессах снижены пролиферативная активность эндотелия и его компенсаторная перестройка; отмечены утолщение и слоистость эндотелиальной базальной мембраны [31; 124].

Таким образом, эндотелиальные клетки, являясь высокоспециализированным метаболически активным монослоем, выстилающим все сосуды организма, специфически реагирует на различные молекулярные сигналы, генерирующиеся как локально, так и дистантно. При этом эндотелий выполняет многообразные функции, в том числе селективные, транспортные и барьерные, участвует в метаболизме внеклеточного матрикса, биосинтезе разнообразных цитокинов, ангиогенезе, регулирует процессы свертывания крови,

сосудистый тонус и иммуновоспалительные реакции.

Клетки эндотелия участвуют во всех фазах острого и хронического воспаления, таких, как начальная вазодилатация, увеличение сосудистой проницаемости, адгезия и активация лейкоцитов, ангиогенез и фиброз. Активация и/или повреждение эндотелиальных клеток имеет фундаментальное значение в развитии широкого спектра биологических и патологических процессов, в первую очередь, тромботических нарушений, приводящих к сосудистой патологии при заболеваниях человека [53].

1.2. Структурно-функциональная характеристика матрикс-продуцирующих клеток и их производных в норме и при глаукоме

Соединительная ткань, состоящая из клеток, волокон и экстрацеллюлярного матрикса, формирует строму. Однако она не является только инертной средой для стабилизации других тканей и органов, но является динамичной тканью, в которой разворачиваются многочисленные регуляторные процессы, вовлеченные в тканевую организацию, развитие, заживление ран, иммунный ответ и восстановление органов. Экстрацеллюлярный матрикс постоянно обновляется, и его молекулы модулируют функциональную активность клеток [5]. Они также играют ключевые роли в патологических процессах, включая воспалительные, дегенеративные и опухолевые процессы [55]. Важно отметить, что компоненты матрикса вовлечены в опухолевый ангиогенез, инвазию опухолей и метастазирование [166].

Экстрацеллюлярный матрикс продуцируется фибробластами и состоит в основном из волокон и фибрилл коллагена и эластина, погруженных в основное вещество - неколлагеновые гликопротеины и протеогликаны. Волокна, фибриллы и компоненты основного вещества различаются в различных типах соединительной ткани [57; 58].

В случаях рубцевания искусственно созданных при антиглаукомных операциях путей оттока ВГЖ приходится выполнять по нескольку операций, а

между операциями назначают местные гипотензивные средства. При этом рефрактерность, или торпидность, глаукомы с быстрым фиброзированием зоны оперативного вмешательства является предметом исследования и клеточных биологов, изучающих повышенную функциональную активность фибробластов, и офтальмологов.

Матрикс-продуцирующие клетки (или фибробласты-фиброциты) являются основными клеточными элементами волокнистой соединительной ткани, представляя собой самые многочисленные и функционально активные клетки [183]. Это обобщающее понятие для целой группы клеток соединительной ткани, которые подразделяются на два ведущих структурно-функциональных фенотипа с множеством переходных форм. Малодифференцированные (юные) фибробласты способны к миграции и пролиферации и служат предшественниками большинства более специализированных клеток: фиброкластов, миофибробластов, адипоцитов и зрелых фибробластов. Зрелые фибробласты – основные регуляторы внеклеточного гомеостаза тканей, впоследствии трансформируются в малоактивные в аспекте пролиферации и биосинтеза фиброциты [13; 156].

Морфологически зрелые фибробласты представляют собой слабобазофильные отростчатые клетки сравнительно больших размеров, с эухромным ядром и одним – двумя ядрышками. Характерны следующие ультраструктурные особенности цитоплазмы клеток: перинуклеарная эндоплазма содержит наибольшее число биосинтетических органелл и более плотный цитоплазматический матрикс; эктоплазма – относительно светлее, выполняет отростки клетки и заполнена преимущественно компонентами цитоскелета, хотя эти различия достаточно условны. Фибробласт способен изменять свою форму, перемещаться во внеклеточном матриксе и обратимо прикрепляться к его клеточным и волокнистым элементам [81; 82].

Фибробласты обнаруживаются во всех органах, поскольку являются непосредственными продуцентами и регуляторами внеклеточного матрикса. Независимо от локализации в различных органах, выделяют общие функции : продукция всех компонентов внеклеточного матрикса, как волокон, так и

основного вещества; поддержание структуры и биохимического гомеостаза внеклеточного матрикса путем синтеза и лизиса его компонентов; а также регуляция жизнедеятельности других клеточных элементов соединительной ткани и специализированных (паренхиматозных) клеток органов, в том числе, вне места локализации фибробласта [32; 57]. Главная синтетическая функция фибробластов заключается в продукции молекул-мономеров фибриллярных белков – коллагена, эластина, ламинина, фибронектина и многих других, а также гликопротеинов и гликозаминогликанов [82].

В организме соединительная ткань постоянно подвержена воздействию разнообразных факторов – механических, химических, биологических. Обеспечение гомеостаза внеклеточного матрикса осуществляется путем регуляции деятельности фибробластов при воздействии комплекса всех факторов. Механизмы механотрансдукции могут осуществляться путем прямого взаимодействия с цитоскелетом через поверхностные белковые молекулы интегрины или через ионные потоки механочувствительных ионных каналов. Тем не менее, в конечном итоге реакция данного типа клеток к механической нагрузке зависит от физических характеристик нагрузки и экспрессии различных типов сигнальных молекул и транскрипционных факторов. Существует огромное различие в клеточном механобиологическом ответе в зависимости от типа нагрузки и условий, в которых она возникает [178; 241].

Не менее важным механизмом регуляции фибробластов является хемотрансдукция. Фибробласты ремоделируют внеклеточный матрикс, прежде всего, на основании сигналов рецепторов - интегринов и их корецепторов [111]. Интегрины представлены семейством из 8 β - и 18 α -субъединиц, которые образуют 24 различных, нековалентно связанных гетеродимерных рецептора на поверхности фибробластов. Интегрины не имеют собственной ферментативной активности, информация об изменениях внеклеточной среды передается через многочисленные пути внутриклеточной сигнализации, а также посредством структурных белков [130; 154; 222].

Коллаген – один из наиболее распространенных белков соединительной

ткани, известно более 20 типов коллагеновых волокон. Каждое коллагеновое волокно имеет несколько микрометров в диаметре и состоит из тысяч плотно упакованных полипептидных цепей. Коллагены различаются по локализации в тканях и по своему функциональному значению. Четыре основных типа коллагенов (I – IV) включают следующие белки : коллаген I – основной компонент кости, который также присутствует в рубцовой ткани, сухожилиях и хрящах; коллаген II – основной компонент хряща; коллаген III формирует ретикулярные волокна; коллаген IV типа формирует эпителиальные базальные мембраны [57; 58; 109].

Экстрацеллюлярные полипептидные цепи коллагена собираются в коллагеновые фибриллы, которые впоследствии формируют коллагеновые волокна. Лизилоксидаза и подобные ей ферменты осуществляют поперечную сшивку полипептидных цепей коллагена, усиливая механическую прочность фибрилл [70]. Коллагеновые волокна присоединяются к клеточным мембранам через белки-адаптеры, такие как фибронектин и многочисленные интегрины. Протеогликан люмикан и белок фибромодулин влияют на самосборку цепей коллагена, ограничивая размер фибрилл. Ремоделирование (деградация или протеолиз) коллагеновых волокон экстрацеллюлярного матрикса производится посредством матриксных металлопротеиназ.

Эластические волокна придают эластичность внеклеточному матриксу и, соответственно, всей соединительной ткани. Основным компонент этих волокон – эластин, кодируемый единственным геном. В отличие от коллагенов, полипептидные цепи эластина не гликозилируются и не содержат гидроксилизинов. После синтеза на рибосоме и гидроксилирования пролиновых остатков белок-предшественник эластина секретируется в экстрацеллюлярный матрикс, где он проходит через самосборку и поперечную сшивку между лизиновыми остатками. Гидроксилирование пролинов и поперечная сшивка выполняются через те же биохимические пути, что и для коллагеновых белков. Состоящая из эластиновых цепей сердцевина эластических волокон укреплена снаружи гликофибриллярными белками, которые представлены фибриллинами,

фибулинами и эмилинами [57; 58; 128].

Протеогликаны внеклеточного матрикса формируют его структуру за счет взаимодействий с различными внеклеточными макромолекулами. Во внеклеточном матриксе протеогликаны взаимодействуют с ламинином, фибронектином и коллагеном. Известно, что декорин связывается с коллагеном I, II, IX, причем как в эмбриональных тканях, так и в тканях взрослого человека. Фибромодулин, так же, как и декорин, связывается с коллагеном I и II и влияет на фибриллогенез коллагена, тогда как бигликан коллаген не связывает, но его большое количество было обнаружено во внеклеточном матриксе мезенхимных эмбриональных клеток [70; 200; 205].

Протеогликаны плазмолемм представляют собой рецепторы для различных компонентов внеклеточного матрикса, регуляторных макромолекул, факторов роста и играют ключевую роль в информационной связи между клеткой и внеклеточным матриксом. Фибронектин - один из ключевых белков межклеточного матрикса, неколлагеновый фибриллярно-глобулярный структурный гликопротеин, синтезируемый и выделяемый в межклеточное пространство многими клетками [57; 58].

Главные свойства фибронектина обусловлены полидоменностью его молекулы. Среди лигандов, к которым обнаружены домены в его молекуле, указывают коллаген, фибрин и фибриноген, гепарин, поверхность клеток. Фибронектин синтезируется практически всеми видами клеток, за исключением некоторых видов нервных клеток. Растворимый, или плазменный, фибронектин синтезируется гепатоцитами; нерастворимый, или тканевый, фибронектин синтезируется в основном фибробластами или эндотелиоцитами. Обе формы фибронектина вовлечены в разнообразные процессы: способствуют адгезии и миграции эпителиальных и мезенхимальных клеток, контролируют дифференцировку и поддержание цитоскелета клеток, активно участвуют в воспалительных и репаративных процессах, в свертывании крови [148]. Фибронектин способен связывать также и гликозаминогликаны, при этом образуя с коллагеном стойкий нерастворимый комплекс.

Исследования последних лет [115] дают основание классифицировать фибронектин как полифункциональный регулятор практически всех клеток организма животных и человека, а также микроорганизмов, с ним взаимодействующих. Полифункциональность определена не только наличием его во всех тканях и жидкостях, но способностью к образованию макромолекулярных комплексов, протеолизу и аутопротеолизу с освобождением высокоактивных пептидных фрагментов и пептидов. Фибронектин фиксируется в очаге травмы и за счет аффинитета к клеточной поверхности создает скопления макрофагов и фибробластов. Оседание макрофагов в очаге деградированной ткани приводит к лизису разрушенного коллагена и его дериватов, перестройке соединительнотканного матрикса и рубцеванию. Фибронектин в грануляционной ткани обнаруживается раньше коллагена и исчезает по мере организации коллагенового матрикса. В межклеточном матриксе, окружающем трансформированные (или опухолевые) клетки, количество фибронектина заметно снижено, что может быть одной из причин появления метастазов [228].

Таким образом, фибронектин участвует в физиологических и патологических реакциях, протекающих в рыхлой и оформленной соединительной ткани, в крови, а также во всех органах и тканях, по которым рассредоточена система мононуклеарных фагоцитов, где протекают реакции коллагенообразования и репаративная регенерация [103].

1.3. Структурные основы рефрактерности глаукомы и методы визуализации дренажной системы глаза

Склера состоит из матрикс-продуцирующих клеток и межклеточного матрикса, состоящего из коллагеновых волокон и основного вещества [179]. Экстрацеллюлярный матрикс склеры содержит коллагены I, VI и VIII типов с небольшой примесью коллагена III типа, эластиновые фибриллы и такие протеогликаны как декорин, бигликан и аггреккан. Сосуды склеры содержат коллагены IV, V и VI типов [113; 237].

Анализ спектра склеральных гликозаминогликанов показал, что в склеральной ткани вокруг зрительного нерва преобладают дерматансульфаты, рядом с экватором – гиалуроновая кислота, вокруг макулярной зоны – хондроитин-сульфаты [15]. Различные виды протеогликанов, такие как декорин, бигликан и агрекан представлены в ткани склеры в различных концентрациях в различных участках. Более того, их количественное соотношение изменяется также с возрастом: приблизительно до сорока лет концентрация всех трех протеогликанов возрастает, а впоследствии относительное количество крупных хондроитин-кератан сульфатов (агрекана) увеличивается, а малых хондроитин-дерматан сульфатов (бигликана и декорина) уменьшается [57; 58; 188].

Все антиглаукомные хирургические вмешательства имеют целью снизить ВГД [150; 217], что достигается двумя альтернативными стратегиями: уменьшением продукции ВГЖ (с помощью циклодеструкции) либо усилением оттока ВГЖ (внешняя или внутренняя фильтрующая хирургия) [36]. В соответствии с рекомендациями European Glaucoma Society (2009), последняя стратегия имеет преимущество в тех случаях, когда медикаментозная терапия и лазерная хирургия не обеспечивают целевое ВГД на нетерминальной стадии глаукомы, и поскольку это наиболее физиологичный и результативный подход [118].

Наиболее распространенной технологией циклодеструкции является диодлазерная трансклеральная контактная циклофотокоагуляция [119]. В отличие от других методов, имеющих целью снизить ВГД за счет увеличения оттока ВГЖ от угла передней камеры глаза, циклофотокоагуляция предназначена скорее для уменьшения ее притока, уничтожая непигментированные эпителиальные клетки в цилиарном теле. Цилиарное тело коагулируется лазером или изнутри глаза под эндоскопической визуализацией, или через склеру без открытия глазного яблока. Избыточный эффект несет в себе риск уменьшения в размере глазного яблока; таким образом, лечение обычно проводится дозированно, и одна процедура редко приносит успех в долгосрочной перспективе. Есть широкие разногласия среди хирургов-офтальмологов

относительно значения этого лечения: и его эффективность, и основополагающий принцип обсуждают [131]. Тем не менее, применение микроимпульсного диодного лазера у пациентов с рефрактерной глаукомой в 80 % случаев обеспечивает стабилизацию зрительных функций в течение 18 мес.

Глаукомная имплантационная хирургия в настоящее время все больше используется во всем мире как последний метод после неудачной попытки трабекулоэктомии [78; 121]. В результате ВГЖ проходит из передней камеры через тонкую трубку в эписклеральные вены, расположенные за экватором глазного яблока. Проведено множество клинических испытаний, показывающих преимущества имплантов с высоким уровнем доказательств [120; 199; 225]. Многим пациентам, оперированным глаукомными имплантами, по-прежнему необходима местная гипотензивная терапия [56; 147]. При рефрактерной глаукоме клинические испытания со сравнением глаукомных имплантов с фильтрационной хирургией [151; 152; 180] показали сравнительно хорошие результаты обеих процедур в отношении показателей успешности за 1 год (90 %), ВГД (12 мм рт. ст.) и надежности, хотя группа с имплантами получала больше лекарственных средств в послеоперационном периоде [100].

Трабекулотомия и гониотомия являются обычными хирургическими вмешательствами при врожденной глаукоме [20]. Трабекулярная сеть, открытая хирургическим путем либо изнутри, – это гониотомия, либо снаружи – трабекулотомия для создания связи между углом передней камеры глаза и шлеммовым каналом. Трабекулоэктомия также иногда выполняется в качестве основного хирургического лечения врожденной глаукомы [231]. Для врожденной глаукомы, в отличие от других типов глаукомы, хирургия является в целом эффективным методом лечения [164; 165; 226].

Другой метод глубокой склерэктомии с или без рассасывающегося имплантата связан с трабекулоэктомией, отличаясь от нее тем, что глубокий склеральный лоскут вырезают, но трабекулярная сеть не полностью открыта [112; 129]. Угол передней камеры глаза остается интактным. После этой операции меньше раздражения в глазу, но отсутствует эффективное снижение ВГД, как в

результате трабекулоэктомии с митомицином С [102; 189; 220].

Трабекулоэктомия с митомицином С - это хирургическое лечение первого выбора для рефрактерной глаукомы. В зависимости от индивидуальной ситуации пациента успех операции после 1–5 лет находится между 50 % и 90 %. «Успех» обычно означает, что дефект поля зрения остается стабильным, и ВГД не растет больше 20 мм рт. ст. [28; 167; 181; 189; 216].

Целью процедуры является установить постоянный трансклеральный отток ВГЖ из глаза в субконъюнктивальное пространство. Таким образом, в идеальном случае легкое выпячивание фильтрационной подушки видно в верхнем квадранте глазного яблока. Ускорение развития катаракты – побочный эффект операции, потому что ВГЖ дольше омывает хрусталик. Значительная часть фильтрационных подушек могут быть рубцующимися, поэтому для ингибирования фибробластической активности трабекулоэктомию обычно сочетают с интраоперационной аппликацией митомицина С [167; 189].

У пациентов особого риска это иногда дополняется послеоперационным субконъюнктивальным введением 5-фторурацила и других антиметаболитов [87; 92; 112; 114]. В отличие от современной «бескровной» хирургии катаракты, этому оперативному вмешательству требуется временное прерывание или прекращение приема любых антикоагулянтов, так как сильное кровотечение ухудшает функциональный результат этого типа фильтрующей операции [18; 195; 223].

Стабильный послеоперационный период наблюдения необходим даже если процедура первоначально была успешной: после аппликации митомицином С [167; 180; 189], спустя даже годы в фильтрационной подушке могут появляться микроповреждения, через которые могут попасть бактерии и вызывать вторичный эндофтальмит. Риск бактериального воспаления подушки и эндофтальмита после антиглаукомной операции составляет от 1–1,5 % больных. Эндофтальмиты также могут быть осложнением имплантатов для глаукомы: это происходит в 5 раз чаще у детей [22].

Итоги операции позволяют оценить различные методы визуализации : оптические (основанные на использовании электромагнитного излучения

оптического диапазона) и лучевые (с применением ионизирующего излучения, магнитного резонанса, ультразвукового излучения) методы диагностики. Технологические достижения конца 20-го столетия способствовали появлению множества специальных диагностических методов с очень высокой степенью детализации структур, преимущественно предназначенных для визуализации заднего отрезка глаза [86].

Ценность метода визуализации переднего отрезка глаза определяется такими основными критериями, как границы зоны обзора, степень детализации визуального изображения и уровень достоверности полученной информации. Исходя из этого, при применении неинвазивных оптических методов (биомикроскопия, оптическая когерентная томография переднего отрезка глаза) можно условно выделить три анатомические зоны: хорошо визуализируемая (роговица, конъюнктивa, передняя камера, передняя поверхность радужки), частично визуализируемая (склера, угол передней камеры, хрусталик, центральные отделы стекловидного тела) и практически не визуализируемая (строма и задняя поверхность радужки, экватор хрусталика и связочный аппарат хрусталика, цилиарное тело, пристеночные отделы стекловидного тела) [1; 61].

Анализ мирового клинического опыта свидетельствует о том, что в настоящее время среди существующего многообразия оптических и лучевых методов, используемых в офтальмологии, единственным методом прижизненной визуализации всех элементов переднего сегмента глаза, в том числе, «немой» зоны глаза (причем с микроскопическим разрешением), является ультразвуковая биомикроскопия (УБМ) [86; 161; 233; 234].

Метод УБМ разработан и внедрен С. J. Pavlin с соавт. в 1990 году для оценки переднего отрезка глазного яблока [192]. Хотя метод известен уже давно, его возможности изучены не в полной мере, отсутствуют четкие рекомендации по алгоритму исследования, нет масштабных исследований по результатам диагностики патологических состояний, затрагивающих отдельные структуры переднего отрезка глаза. Сообщения об использовании УБМ в диагностике офтальмопатологии в широкой клинической практике немногочисленны.

Интерпретация результатов УБМ зачастую в значительной мере зависит от знаний и умения оператора [61; 72; 73; 86; 97; 192].

Метод оптической когерентной томографии переднего отрезка глаза, широко внедряемый в последнее время в клинику, не обладает вышеперечисленными недостатками. Метод основан на принципах низкокогерентной интерферометрии, полученные данные, посредством компьютерного анализа преобразуются в картину светорассеивающей и отражающей способности тканей и используются для построения изображений и измерения размеров анатомических структур в сканируемой зоне. Исследование проводится бесконтактно и может использоваться для оценки фильтрационной подушки в ранний послеоперационный период. Аппараты обеспечивают получение изображений тканевых структур с аксиальным разрешением до 16 мкм, однако глубина сканирования в ткани, не обладающей прозрачностью, невысока. В отличие от УБМ, визуализировать цилиарное тело этим методом в большинстве случаев не представляется возможным [97; 99; 117; 146]. Существенным недостатком метода томографии переднего отрезка глаза является также и то, что в аппаратах отсутствует шкала интенсивности сигнала, вследствие чего оценка оптических свойств тканей является субъективной.

Опубликованы данные о применении оптической когерентной томографии переднего отрезка глаза для оценки фильтрационной подушки при трабекулэктомии и непроникающей глубокой склерэктомии по поводу первичной глаукомы, в том числе с применением антиметаболитов, а также для контроля при лазерном рассечении швов и для визуализации положения дренажей и дренажных устройств [96; 97; 153; 181].

Особенности фильтрационных подушек с высоким риском рубцевания изучают с помощью томографии переднего отрезка при различных антиглаукомных операциях, в частности, с применением биологических материалов и гидрогелевых эксплантодренажей с целью установить возможность определения отличительных признаков функционирующих фильтрационных подушек, сопровождающихся высоким риском рубцевания в послеоперационный

период [184; 234; 296].

Изменения соединительной ткани при ПОУГ, как и в ряде наследственных заболеваний, связаны в том числе с нарушением метаболизма коллагена. Об этом свидетельствуют изменения на тканевом, молекулярном и системном уровнях – характерная деструкция коллагеновых волокон в трабекуле, склере и решетчатой пластинке, повышение уровня оксипролина и концентрации аутоантител к коллагену в сыворотке крови, появление в соединительной ткани глаза не свойственных ей типов коллагена [25; 35; 41; 76; 141].

Как и при ряде наследственных дисплазий, характерным для ПОУГ является нарушение биомеханических свойств соединительной ткани [11]. При дисплазиях, в большинстве случаев, это связано с наследуемым появлением или перераспределением коллагенов I и III типов. Поскольку при ПОУГ доказан факт накопления в склере коллагена III типа, можно предположить нарушение его синтеза из-за возможных мутаций или полиморфизмов в генах или же переключением синтеза с одного типа на другой при наличии фоновых инволютивных изменений [25; 195].

Определяющая роль в развитии избыточного рубцевания после антиглаукомной операции принадлежит местным трофическим изменениям соединительной ткани дренажной системы глаза и склеры [75; 145]. Травматизация тканей в ходе операции может активизировать пролиферацию фибробластов с образованием плоского или ограничивающего рубца [54; 132].

По данным гистологического исследования биоптатов, взятых при проведении синустрабекулэктомии, сделаны выводы о развитии воспалительных изменений конъюнктивы вследствие местной терапии β -блокаторами, миотиками и симпатомиметиками в течение 3-х и более лет, что может отрицательно влиять на эффективность антиглаукомного вмешательства [135; 187; 229]. У пациентов, применявших данные препараты около 1 года, обнаруживают высокое содержание макрофагов, лимфоцитов, тучных клеток и фибробластов [110; 208].

Увеличение количества провоспалительных клеток может послужить одной из причин повышенного рубцевания зоны фильтрации ВГЖ [127; 137] и снижения

эффективности синустрабекулэктомии. Выявлена прямая взаимосвязь развивающейся при этом дистрофии микроциркуляторного русла со стадией глаукомного процесса [176; 220]. Ряд авторов склонны объяснять отрицательное влияние местных антиглаукомных препаратов токсическим влиянием консервантов и других вспомогательных веществ, входящих в их состав [63; 106; 134].

Например, препараты из группы миотиков вызывают нарушение гематоофтальмического барьера и провоцируют тканевую воспалительную реакцию. Помимо этого, длительная стимуляция волокон цилиарного тела и зрачкового сфинктера миотиками может снизить эффективность терапии цилиохориоидальной отслойки и злокачественной глаукомы [49; 238; 239].

По-видимому, препараты, длительно снижающие продукцию ВГЖ, в определенной степени пролонгируют период послеоперационной реабилитации глаза, нарушая баланс «приток-отток», и могут провоцировать замедление восстановления мелкой передней камеры и развитие цилиохориоидальной отслойки [21; 49].

Придерживаясь существующих рекомендаций (постепенная отмена вышеуказанных препаратов за одну неделю до синустрабекулэктомии), необходимо поддерживать максимально низкий уровень ВГД в предоперационном периоде. Медикаментозное лечение глаукомы может вызывать нежелательные изменения в конъюнктиве, связанные не только с аллергией и токсичностью, что является побочным эффектом большинства глазных капель, но, и, с рубцовыми изменениями, которые вызывают парасимпатомиметики, симпатомиметики и β -блокаторы. Например, практолол обычно вызывает рубцевание конъюнктивы, и даже широко применяемый тимолол влияет на процесс регенерации сформированных путей оттока. Кроме того, ингибиторы карбоангидразы, как известно, иногда вызывают синдром Стивенса-Джонсона с тяжелыми конъюнктивальными рубцами. Распространено мнение о том, что продолжающееся использование миотиков до антиглаукомной операции увеличивает вероятность повторной операции [66; 101].

Применение гипотензивной медикаментозной терапии более 3 лет оказывает влияние на процесс ускоренного фиброза [196]. В целом, хирургическое лечение ПОУГ показано только после того, как максимально переносимое медикаментозное лечение исчерпано [155].

Тем не менее, при исследовании конъюнктивы и теноновой капсулы наблюдалось увеличение воспалительных клеток у пациентов, длительно получающих гипотензивную терапию [143]. Эти результаты показывают, что объем медикаментозной терапии до операции может повысить риск ускоренного рубцевания фильтрационных подушек.

Успех хирургии глаукомы зависит от течения ранозаживляющего процесса, который при необходимости должен быть изменен с целью оптимизации формирования послеоперационных путей оттока [164; 170; 174; 220]. Однако, несмотря на радикальность оперативного вмешательства, не всегда удается добиться желаемого результата, что требует совершенствования имеющихся хирургических методик и поиска новых. Антиглаукомная операция может считаться успешной, если в отдаленные сроки послеоперационного периода уровень ВГД стойко удерживается в пределах нормы [23].

1.4. Клеточные основы методов коррекции офтальмотонуса

Юкстаканаликулярный слой трабекулярной сети особенно важен с функциональной точки зрения, так как является основным препятствием оттоку ВГЖ и, по-видимому, центральным звеном его регуляции. Клетки ЮКТ синтезируют гликозаминогликаны, образующие аморфную субстанцию межклеточного вещества и участвующие в движении ВГЖ к шлеммову каналу. Равновесие процессов синтеза и метаболизма гликозаминогликанов является одним из регулирующих механизмов оттока ВГЖ [123; 218].

Этот механизм регуляции движения ВГЖ сквозь ЮКТ обуславливает специфическую реакцию этой ткани на различные гидродинамические ситуации. Так, в условиях гипоперфузии (при пониженном офтальмотонусе и,

соответственно, менее интенсивном пассаже ВГЖ) в ЮКТ накапливаются гликозаминогликаны, в результате ткань уплотняется, что усугубляет гипоперфузию; нарушается трофика клеточных элементов как ЮКТ, так и трабекул, что ведет к дегенерации и гибели клеток [136].

Такие изменения происходят, например, после операции трабекулэктомии [212], когда основной отток происходит сквозь операционную фистулу, и весь трабекулярный аппарат вне зоны операции попадает в условия гипоперфузии. При гиперперфузии (при закрытоугольной глаукоме в тех отделах трабекулы, которые еще не блокированы корнем радужки) происходит растяжение и разрежение ЮКТ с усиленным вымыванием аморфного матрикса. Из ЮКТ ВГЖ проникает в просвет шлеммова канала через гигантские вакуоли в клетках его эндотелия и/или по межклеточным каналам [48].

С возрастом склера подвергается прогрессивным дегенеративным процессам в коллагеновых и эластических фибриллах, редукции гликозаминогликанов, дегидратации, накоплению липидов и солей кальция, что сопровождается увеличением плотности ткани, потерей эластичности и истончением склеры. Из протеогликанов в склере обнаруживаются фибронектин, витронектин и ламинин [182].

Содержание фибронектина в трабекулярном аппарате глаза при ПОУГ повышено. Отложения фибронектина в склере глаз контрольной группы определялись на коллагеновых структурах в наружных слоях и имели мелкозернистый характер. При ПОУГ отложения этого гликопротеина определялись в глубоких и внутренних слоях склеры и имели очаговый характер. Установлена также взаимосвязь интенсивности экспрессии тканевой формы фибронектина в склере с прогрессированием глаукомного процесса, что может свидетельствовать о существенной роли фибронектина в патогенезе ПОУГ [25; 80].

Особенностью фиброгенного процесса при псевдоэкссфолиативной глаукоме является превалирование экспрессирования трабекулярными клетками TGB β 1 и TGB β 2. Обе изоформы трансформирующего фактора роста (TGF) образуются в

клетках трабекулярной сети и участвуют в патогенезе различных вариантов глаукомы [94; 132]. Экспрессия $TGF\beta 1$ и $TGF\beta 2$ связана с разными генами и характеризуется общими и специфическими эффектами. Показано, что активация экспрессии в трабекулярных клетках $TGF\beta 1-2$ вызывает стимуляцию продукции таких компонентов внеклеточного матрикса, как версикан, эластин, коллагены, фибриллин, ламинин, фибулин [94; 149; 162].

Одним из механизмов развития избыточного пролиферативного ответа является нарушение содержания и баланса регуляторных цитокинов. Продемонстрировано повышение активности основных провоспалительных цитокинов у больных ПОУГ [59], а также при изучении иммунометаболических аспектов выявлены воспалительно-деструктивные процессы, активность и выраженность которых сопряжена со стадией заболевания [3].

Для снижения ВГД применяют пять групп препаратов: из них наиболее часто используют антагонисты β -адренорецепторов (β -блокаторы), аналоги простагландинов и ингибиторы карбоангидразы; кроме того, имеют доказанную эффективность α -адренергические агонисты и М-холиномиметики. Препараты могут быть использованы в различных сочетаниях благодаря их комплементарности в снижении ВГД [24; 106]. С учетом эффективности, переносимости и доступности, препаратами первой линии являются β -блокаторы и аналоги простагландинов.

β -блокаторы снижают ВГД путем ингибирования продукции ВГЖ, являясь неселективным антагонистом адренорецепторов, не проявляют явной симпатомиметической или мембраностабилизирующей активности. Блокирование β -адренорецепторов приводит к снижению уровня внутриклеточного вторичного посредника цАМФ, который участвует в сигнальных процессах, приводящих к торможению продукции ВГЖ [122]. Аналоги простагландинов также относятся к препаратам первой линии при лечении ПОУГ [79; 224]; снижение ВГД основано на увеличении трабекулярного и увеосклерального оттока.

Препаратами второй линии являются местные ингибиторы карбоангидразы и α -агонисты; они могут заменить или быть добавленными к β -блокаторам или

аналогам простагландинов [46; 88; 201]. Ингибиторы карбоангидразы снижают ВГД путем уменьшения продукции ВГЖ с помощью ферментативного ингибирования [175]. α -агонисты уменьшают продукцию ВГЖ и увеличивают увеосклеральный отток одновременно. Выбором третьей линии при лечении ПОУГ являются холинергические агонисты – М-холиномиметики (миотики), эффективно снижающие ВГД за счет увеличения обычного трабекулярного оттока [106].

Несмотря на патогенетически обоснованное применение местных гипотензивных препаратов, монотерапия во многих случаях не обеспечивает адекватного снижения ВГД [24; 26]. Так, у пациентов с рефрактерной глаукомой требуется более высокая эффективность снижения ВГД, и нередко возникает необходимость в добавлении второго препарата.

Взаимодополняющее действие двух препаратов часто служит в качестве основы для разработки комбинированных препаратов, более безопасных в связи с уменьшением дозы консервантов (в т.ч. бензалконий-хлорида), которые обладают весьма выраженной дозозависимой токсичностью в отношении эпителия роговицы [63; 90; 95]. Например, β -блокаторы, в частности, тимолол, хорошо комбинируются и комплементарны в гипотензивной эффективности с местными ингибиторами карбоангидразы и аналогами простагландинов [106; 122; 134; 159].

Фиксированная комбинация бримонидин/тимолол (комбиган) обеспечивает сочетание β -блокатора тимолола, который уменьшает ВГД путем ингибирования производства ВГЖ и бримонидина - агониста α -адренорецепторов, который имеет двойной механизм действия: повышение увеосклерального оттока с одновременным сокращением производства ВГЖ [175]. Другой фиксированной комбинацией является β -блокатор в сочетании с аналогами простагландинов, который доказал свою эффективность в управлении ВГД при рефрактерной глаукоме. Механизм действия аналогов простагландина является дополнением к механизмам снижения ВГД, осуществляемым β -блокаторами [106; 159]. Еще одной сравнительно новой фиксированной комбинацией является 0,03 % биматопрост и 0,5 % тимолол (ганфорт). Биматопрост является синтетическим

простамидом, по химической формуле соответствующим простагландину F. Он снижает ВГД за счет увеличения водного оттока через трабекулярную сеть и за счет повышения увеосклерального оттока [175].

1.5. Резюме

Трабекулярная сеть и шлеммов канал обеспечивают основную фильтрацию внутриглазной жидкости, поэтому они несут главную ответственность за возрастание резистентности оттоку и повышение внутриглазного давления, ассоциированных с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ).

Рефрактерность ПОУГ обусловлена комплексом факторов, в том числе влиянием местных гипотензивных препаратов. Хирургическое лечение ПОУГ показано только после того, как исчерпаны гипотензивные эффекты медикаментозной терапии. При этом местная медикаментозная терапия до антиглаукомной операции может повысить риск ускоренного рубцевания фильтрационной подушки. Резекционная травма индуцирует регенераторные реакции в зоне антиглаукомной операции, выраженность которых определяет феномен рефрактерной глаукомы, характеризующейся повышенной фибропластической активностью соединительной ткани и облитерацией созданных в ходе стандартных фильтрующих операций путей оттока ВГЖ. Наряду с генетическими факторами, значимую роль в развитии избыточного рубцевания после антиглаукомной операции отводят изменениям соединительной ткани лимфодренажной системы глаза и склеры.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Исследование одобрено комитетом по этике ГБОУ ВПО Новосибирского государственного медицинского университета Минздрава России. Проведено комплексное гистологическое исследование (световая и электронная микроскопия, иммуногистохимическое изучение экспрессии двух эпителиев на парафиновых срезах) склеральных лоскутов 112 пациентов (78 мужчин и 34 женщины) с ПОУГ в возрасте от 53 до 82 лет ($68,6 \pm 1,6$) лет.

В склере исследовали все клеточные популяции соединительной ткани – матрикс-продуцирующие клетки (фибробласты-фиброциты) и эндотелиоциты элементов дренажной системы глаза – коллекторных канальцев и водяных вен, а также волокна и основное вещество; кроме того, отмечали наличие нервных волокон.

Критерии включения в исследование : диагноз ПОУГ I–IV стадии с декомпенсированным ВГД ($28,86 \pm 1,54$) мм рт. ст., которым выполнены антиглаукомные операции с последующим структурным изучением склерального лоскута. Среди критериев исключения были дисциркуляторная энцефалопатия, опухолевые заболевания и противопоказания к применению местных гипотензивных препаратов.

Пациенты разделены на 3 группы сопоставимого возраста в зависимости от количества антиглаукомных операций и применения местной гипотензивной терапии. В 1-й группе (10 клинических наблюдений) в силу различных причин пациенты не применяли до оперативного лечения местные гипотензивные средства. Пациенты 2-й группы (64 случая, из них 28 глаз (44 %) с проявлениями псевдоэксфолиативного синдрома) для снижения ВГД до проведения первой операции использовали 7 различных комбинаций антиглаукомных препаратов : в качестве монотерапии 11 человек применяли аналоги простагландинов, 6 – β -блокаторы, 6 – ингибиторы карбоангидразы; в качестве комбинированной терапии по 14 пациентов использовали сочетание β -блокаторов с аналогами

простагландинов или с ингибиторами карбоангидразы, 5 человек – аналоги простагландинов с ингибиторами карбоангидразы, и остальные 8 пациентов применяли трехкомпонентную терапию – аналоги простагландинов, β -блокаторы и ингибиторы карбоангидразы одновременно.

В 3-ю группу вошли 38 пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, с псевдоэксфолиативным синдромом, которым, в отличие от первых двух групп, выполнены две и более антиглаукомные операции, из них последняя – глубокая склерэктомия; с торпидным декомпенсированным ВГД ($31,72 \pm 0,69$) мм рт. ст. несмотря на применение местной медикаментозной терапии указанными для 2-й группы сочетаниями препаратов (соответственно по 5, 2, 5, 7, 7, 5 и 7 глаз пациентов).

Результаты гистологического изучения склеры сопоставляли со структурными особенностями угла передней камеры глаза и фильтрационными подушками – субконъюнктивальными искусственно созданными путями оттока ВГЖ, характеризующимися различной степенью гидрофильности (эхоплотности). Исследовано 104 оперированных пациента для детального УБМ-исследования искусственно созданных путей оттока ВГЖ (74 мужчин и 30 женщин, 108 глаз) в возрасте от 53 до 82 лет ($68,6 \pm 0,8$) лет.

Кроме того, с помощью методов статистики выполнен ретроспективный анализ эффективности 8 схем местной медикаментозной терапии в зависимости от стадии ПОУГ и уровня ВГД: изучено 650 историй болезни пациентов с ПОУГ ($67,9 \pm 1,3$) лет (404 мужчины и 246 женщин, 1197 глаз), госпитализированных в офтальмологическое отделение Государственной Новосибирской областной клинической больницы в период 2011–2014 г.

2.2. Методы светооптического и электронно-микроскопического исследования соединительной ткани склеры

Для светооптического исследования образцы склеры фиксировали в охлажденном до 4°C 4 %-м растворе параформальдегида, приготовленном на

фосфатном буфере Миллонига (pH 7,2–7,4), оставляя в фиксаторе не более одной недели. После фиксации образец проводили через гистологический автомат АТ-4 в течение 23 часов: этиловый спирт 70° – 2 часа, 2 смены этилового спирта 96° – 3 и 2 часа, затем абсолютный спирт 100° – 2 часа, анилин – 3 часа, анилин-ксилол (1:1) – 2 часа, 2 смены орто-ксилола – по 2 часа, далее в термостатах не выше 58°C «каша» ксилол-парафин (1:1) – 2 часа, парафин – 1 час и парафин-воск – 2 часа в соответствии с хорошо отработанной гистологической методикой [50].

С парафиновых блоков на ротационном микротоме готовили срезы толщиной 4–5 мкм, монтировали их на предметные стекла, обработанные полилизинном. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином в комбинации с реакцией Перлса и по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта [14; 50; 68].

Светооптическое исследование парафиновых и полутонких срезов проводили в универсальном микроскопе Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 (C.Zeiss) и компьютерной программой Zen blue (2012), разработанной фирмой C.Zeiss.

Для проведения электронно-микроскопического исследования образцы, предназначенные для заливки в эпоксидные смолы, после промывания в трех сменах буфера Миллонига дофиксировали в 1 %-м растворе OsO₄, постепенно обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (30, 50, 70, 96 и 100°), проводили через смесь абсолютного спирта и ацетона, затем обезвоживали в ацетоне и заливали в специальные формы в смесь эпона-812, DDSA и аралдита-М. Затем блоки полимеризовали в термостате 60° в течение одних суток.

Полутонкие срезы (1 мкм) и ультратонкие (300–500 нм) срезы получали на ультрамикротоме LKB III (Швеция). Полутонкие срезы монтировали на обезжиренные предметные стекла и окрашивали на гистологическом столике (37°C) в капле 1 %-го раствора толуидинового синего, приготовленного на 1 %-м водном растворе буры.

Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия по Рейнольдсу [74] и

исследовали в электронных микроскопах JEM 100-S и JEM 1010 (Япония) при ускоряющем напряжении 60 и 80 кВт соответственно.

2.3. Иммуногистохимическое исследование соединительной ткани склеры

Для иммуногистохимического анализа экспрессии маркеров ангиогенеза и повышенной биосинтетической активности матрикс-продуцирующих клеток в склеральных лоскутах в качестве первичных антител использовали мышинные anti-CD34 (Clone ICO115; специфичность: human, rat) и мышинные anti-Fibronectin (Clone IST-9; специфичность: human, rat, mouse) производства SANTA CRUZ INC в разведении 1:50 с негативными контролями. Исследование проводили в соответствии с рекомендациями, разработанными С. В. Петровым и Н. Т. Райхлиным (2000) [62].

Парафиновые срезы, монтированные на обработанные полилизинном предметные стекла, перед проведением иммуногистохимической реакции подвергали нагреванию в термостате 37°C в течение 30 мин – 1 ч с последующим депарафинированием и регидратацией: 3 смены ксилола по 2 мин в каждой, 2 смены абсолютного спирта по 2 мин, далее спирты 96° и 70°. После этого стекла промывали в дистиллированной воде и помещали в фосфатно-солевой буфер на 3–5 мин. Каждый срез обводили специальным карандашом (Liquid Blocker), препятствующим растеканию реагентов.

Демаскировку антигенов проводили 0,3 %-м раствором тритона X-100 в 0,3 % фосфатном буфере в течение 5 мин. Далее срезы промывали в двух сменах дистиллированной воды и в двух сменах фосфатного буфера по 3 мин.

Эндогенную пероксидазу блокировали инкубированием срезов в специальном растворе из SuperPicture 3rd IHC Detection Kit, содержащего все реагенты для иммуногистохимической реакции за исключением первичных антител, по прописи производителя. Затем промывали в трех сменах дистиллированной воды и буфере (по 3 мин в каждом). Далее инкубировали с

блокирующей неиммунной сывороткой (из набора) в течение 10 мин при комнатной температуре.

Не промывая срезов и лишь подсушив с краев фильтровальной бумагой, наносили первичные антитела (anti-CD34 или anti-Fibronectin) и инкубировали в течение одного часа в термостате 37°C во влажной камере, препятствуя высыханию срезов. В качестве негативного контроля на один из срезов вместо первичных антител наносили блокирующую сыворотку. Через один час стекла промывали в трех сменах буфера и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре со вторичными биотинилированными антителами и стрептавидин-пероксидазным комплексом.

Для визуализации продуктов реакции использовали диаминобензидин (DAB), приготовленный из реактивов коммерческого набора SuperPicture 3rd IHC Detection Kit в течение 5–7 мин. Срезы тщательно промывали в дистиллированной воде и докрашивали гематоксилином Майера (5–7 мин). Для созревания окраски гематоксилином срезы помещали в проточную воду на 10–15 мин до характерного посинения. После этого проводили дегидратацию (обратный регидратации алгоритм) и заключали в каплю полистирола или Биомаунта под покровное стекло.

Продукты иммуногистохимической реакции на парафиновых срезах склеры имели характерный светло- или темно-коричневый оттенок; ядра клеточных элементов окрашивались в фиолетовые тона.

Площадь экстрацеллюлярных продуктов иммуногистохимической реакции с фибронектином оценивали с помощью автоматической системы анализа изображений, встроенную в микроскоп Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 и программным обеспечением ZEN blue (C. Zeiss). Для учета всех мелких зон экспрессии продукты реакции выражали в пикселях, для каждого параметра оценивали по 10–20 изображений суммарной площадью 625 мкм². С учетом нормального распределения полученных данных, применяли параметрическую статистику. Различия между группами считали достоверными при ($p < 0,05$).

2.4. Метод ультразвуковой биомикроскопии фильтрационных подушек

Для детального УБМ-исследования искусственно созданных путей оттока ВГЖ исследовано 108 глаз 104 оперированных пациентов (74 мужчин и 30 женщин) в возрасте от 53 до 82 лет ($68,6 \pm 0,8$) лет. В каждой группе УБМ выполнена через $1,2 \pm 0,5$ года после глубокой склерэктомии. Первично оперированные пациенты составили контрольную группу для УБМ, им она выполнялась через 2 месяца после операции.

Пациенты разделены на 3 группы репрезентативного возраста в зависимости от уровня ВГД в отдаленные сроки после хирургического лечения глаукомы: 1 и 2-я группы – на фоне длительного лечения местными гипотензивными лекарственными препаратами и 3-я группа – без консервативной терапии. Первая группа – 41 пациент (42 глаза) с компенсированным ВГД (среднее значение ВГД ($21,6 \pm 0,34$) мм рт. ст.; вторая группа – 41 пациент (42 глаза) с рефрактерным течением глаукомы с декомпенсированным ВГД ($31,7 \pm 0,69$) мм рт. ст.; каждая из первых двух групп была дополнительно разделена на 4 подгруппы в зависимости от применяемых препаратов: аналоги простагландинов, β -блокаторы, комбинация аналогов простагландинов и β -блокаторов, комбинация β -блокаторов и ингибиторов карбоангидразы. В 3-ю (контрольную) группу были включены 22 пациента (24 глаза) с одной антиглаукомной операцией в анамнезе, со стойкой компенсацией ВГД ($17,2 \pm 0,53$) мм рт. ст., не нуждающихся в применении местных гипотензивных препаратов.

Критерии включения в исследование: пациенты не моложе 40 лет, с ПОУГ, которым выполнены одна и более антиглаукомные операции проникающего типа; срок послеоперационного наблюдения составил от 2 месяцев до 3 лет. Критерии исключения: возраст до 40 лет, присутствие признаков острой или хронической закрытоугольной или смешанной глаукомы, дисциркуляторная энцефалопатия с отсутствием приверженности консервативной терапии, опухолевые заболевания и противопоказания к применению местных гипотензивных препаратов.

УБМ выполняли с применением ультразвукового биомикроскопа модели B scan plus Accutome (США) с частотой датчика 40МГц. Исследование проводили под местной инстилляционной анестезией 0,5 % раствором алкаина в положении больного лежа на спине. На глазное яблоко устанавливали воронку, которую заполняли 0,9 %-м раствором NaCl. Затем в нее погружали рабочую часть зонда и сканировали область угла передней камеры и цилиарного тела в режиме «стоп-кадра».

Важно отметить, что УБМ позволяет оценить состояние вновь созданных путей оттока ВГЖ в разные сроки после антиглаукомных операций и дать объективную характеристику с целью определения эффективности и прогноза оперативного вмешательства.

Визуализация дренажной зоны глаза после антиглаукомных операций позволяет выделить основные зоны, участвующие в фильтрации ВГЖ (внутренняя фистула, интрасклеральная полость и фильтрационная подушка); определить эхоплотность (акустическую морфологию) структур каждой зоны дренажной системы с математическим расчетом их акустических параметров при различиях офтальмотонуса.

Степень эхогенности структуры, которая определяется акустической плотностью исследуемой ткани по отношению к плотности склеры (как ткани, имеющей максимальную плотность на ультразвуковых сканах глаза) является дифференциально-диагностическим маркером объективизации состояния интрасклеральной полости и фильтрационной подушки.

А. Г. Щуко и соавт. (2013) выделяют 3 варианта эхогенности структур [86]:

1. Анэхогенная степень плотности ткани соответствует участку свободного прохождения ультразвука, свидетельствует о наличии в полости ВГЖ;

2. Гипоэхогенная степень плотности ткани соответствует частичному прохождению ультразвука. Уровень эхогенности обратно пропорционален степени плотности исследуемой ткани и обусловлен реактивным ответом дренажных структур, например, экссудативно-воспалительной реакцией на

хирургическую травму, что позволяет судить о степени выраженности пролиферативных процессов в зоне операции;

3. Гиперэхогенная степень плотности ткани – зона максимального отражения ультразвука, близкая по плотности к склере, что не позволяет ее дифференцировать.

В соответствии с этими рекомендациями, при оценке формирования вновь созданных путей оттока учитывали функциональный объем полости субконъюнктивальной или субсклеральной зон и акустическую плотность их содержимого. Уменьшение функционального объема полости фильтрационной подушки и склерального канала, увеличение акустической плотности содержимого путей оттока являются признаками фиброза склеры.

При УБМ оценивали вновь созданные пути оттока ВГЖ, обращая внимание на размеры и конфигурацию фильтрационной подушки: формирование склеральной или склероконъюнктивальной полостей; развитие одно- и многокамерных структур; увеличение акустической плотности содержимого фильтрационной подушки вплоть до ее облитерации. Кроме того, пытались дифференцировать наличие, конфигурацию и протяженность интрасклеральной полости, наличие или отсутствие ее связи с фильтрационной подушкой и внутренней фистулой, поскольку возможны изменения в виде ампулообразного слепо заканчивающегося хода, резкое сужение и полная облитерация.

Пользовались классификационной схемой оценки путей оттока ВГЖ А. Г. Щуко и соавт. (2013), которая включает в себя классификацию интрасклеральной полости (от 0 до 4 баллов) и фильтрационной подушки (от 0 до 5 баллов) [86]. Оценка состояния интрасклеральной полости состоит из качественного (с использованием показателя эхогенности) и количественного (измерения высоты интрасклеральной полости (h) показателей:

0. интрасклеральная полость отсутствует, степень эхогенности не определяется;

1. щелевидный, слепо заканчивающийся канал, не сообщающийся с полостью фильтрационной подушки. Эхогенность содержимого определить

невозможно ($h \leq 0,14$) мм;

2. щелевидный канал (h от 0,15 до 0,199) мм, заполненный анэхогенным или гипоехогенным содержимым, сообщающийся с полостью подушки;

3. узкий канал (h – 0,2 до 0,399) мм, заполненный анэхогенным или гипоехогенным содержимым, сообщающийся с полостью подушки;

4. широкий канал (h от 0,4 до 0,6) мм, заполненный анэхогенным или гипоехогенным содержимым, сообщающийся с подушкой.

Основопологающим критерием оценки функциональной состоятельности фильтрационной подушки является степень эхогенности ее содержимого:

- фильтрационная подушка отсутствует, границы ее дифференцируются, акустическая плотность соизмерима с плотностью склеральной ткани;

- плоская фильтрационная подушка с дифференцируемыми границами, с гиперэхогенным содержимым (псевдоподушка);

- плоская фильтрационная подушка с дифференцируемыми границами гипоехогенной структуры;

- крупнокистозная (солитарная) подушка – однокамерное образование с четкими границами, заполненное анэхогенным содержимым;

- мелкокистозная фильтрационная подушка – многокамерное образование с четкими границами с анэхогенным и гипоехогенным содержимым;

- классическая фильтрационная подушка имеет четко дифференцируемые границы с анэхогенным и гипоехогенным содержимым.

УБМ играет ключевую роль в изучении механизмов развития ранней послеоперационной гипертензии и причин декомпенсации в отдаленные сроки после операции [117; 209].

2.5. Методы ретроспективного статистического анализа антиглаукомного лечения пациентов

Изучена эффективность местных антиглаукомных препаратов по данным 650 историй болезни пациентов с ПОУГ ($67,9 \pm 1,3$) лет (404 мужчины и 246

женщин, 1197 глаз). В клинической практике офтальмологического отделения Государственной Новосибирской областной клинической больницы для снижения ВГД у пациентов с ПОУГ используют 8 схем медикаментозной терапии, базирующейся преимущественно на 3-х группах препаратов: аналоги простагландинов, β -блокаторы и ингибиторы карбоангидразы (таблица 1).

Таблица 1 – Моно- и комбинированная местная гипотензивная терапия

№	Препараты	Стадии ПОУГ, количество глаз, абс. (%)			
		начальная (n = 274)	развитая (n = 454)	далекоза- шедшая (n = 316)	термина- льная (n = 153)
0	Без препаратов, (n = 105)	22 (8 %)	37 (8,0 %)	28 (9 %)	18 (12 %)
1	Аналоги простагландинов, (n = 164)	54 (20 %)	57 (12,5 %)	40 (13 %)	13 (8,5 %)
2	β -блокаторы, (n = 178)	41 (15 %)	64 (14 %)	39 (12 %)	34 (22 %)
3	Ингибиторы карбоангидразы, (n = 56)	10 (3 %)	24 (6 %)	14 (4 %)	8 (5 %)
4	Аналоги простагландинов + β -блокаторы, (n = 194)	44 (16 %)	85 (19 %)	52 (16,5 %)	13 (8,5 %)
5	β -блокаторы + ингибиторы карбоангидразы, (n = 325)	63 (23 %)	119 (26 %)	97 (31 %)	46 (30 %)
6	Аналоги простагландинов + ингибиторы карбоангидразы, (n = 90)	19 (7 %)	37 (8 %)	22 (7 %)	12 (8 %)
7	Аналоги простагландинов + β -блокаторы + ингибиторы карбоангидразы, (n = 40)	8 (3 %)	15 (3 %)	11 (3,5 %)	6 (4 %)
8	α -2-адреномиметик + β -блокаторы, (n = 45)	13 (5 %)	16 (3,5 %)	13 (4 %)	3 (2 %)

Отсутствие компенсации уровня ВГД на оптимальном медикаментозном режиме, прогрессирующее ухудшение зрительных функций (поля зрения и состояние диска зрительного нерва), способствующих ухудшению качества жизни пациента является показанием для проведения лазерного и/или хирургического лечения.

В Российской Федерации зарегистрированы и являются препаратами первого выбора для лечения глаукомы следующие фармакологические формы:

- Травапрост 0,004 % (Траватан) – 1 капля 1 раз в сутки. Среднее снижение ВГД 30% от исходного;

- Латанопрост 0,005 % (Ксалатан) – 1 капля 1 раз в сутки (вечером). Среднее снижение ВГД 28 % от исходного;

- Тимолол 0,25 %, 0,5 % (Арутимол, Окумед, Офтан-тимолол, Тимолол-ПОС, Тимолол-Ленс и др.) – 1 капля 2 раза в сутки. Среднее снижение ВГД 19 % от исходного.

Гипотензивные лекарственные средства второго выбора:

- Пилокарпин 1 %, 2 %, 4 %, 6 % – 1 капля до 4 раз в сутки. Среднее снижение ВГД 17–20 % от исходного;

- Бетаксалол 0,5 % (Бетоптик, Беталмик) и 0,25 % (Бетоптик С). Среднее снижение ВГД 20 % от исходного;

- Бринзоламид 1 % (Азопт) – 1 капля 2 раза в сутки. Среднее снижение ВГД 20 % от исходного;

- Дорзоламид 2 % (Трусопт) – 1 капля 3 раза в сутки. Среднее снижение ВГД 20 % от исходного.

Комбинированные лекарственные средства обеспечивают среднее снижение ВГД от исходного в пределах 34-38 % :

- Дорзоламид + Тимолол (Косопт) – 1 капля 2 раза в сутки;

- Бринзоламид + Тимолол (Азарга) – 1 капля 2 раза в сутки;

- Латанопрост + Тимолол (Ксалаком) – 1 капля 1 раз в сутки;

- Травапрост + Тимолол (Дуотрав) – 1 капля 1 раз в сутки.

Для формулировки диагноза использовали классификационные признаки и рекомендации, содержащиеся в Национальном руководстве по глаукоме [20] с рекомендуемыми цифровыми и буквенными обозначениями. Полный диагноз: «Первичная открытоугольная далеко зашедшая нестабилизированная глаукома с нормальным ВГД», сокращенно : «Открытоугольная нестабилизированная глаукома ША».

Деление глаукомы на стадии проводили по рекомендациям Национального руководства по глаукоме [20]:

- первой (начальной) стадии соответствовали нормальные границы поля зрения с возможными небольшими изменениями (скотомами) в парацентральных отделах и расширенной экскавацией диска зрительного нерва (не до края);

- стадия II (развитая) — выраженные изменения поля зрения в парацентральном отделе в сочетании с его сужением более чем на 10° в верхне- и/или нижненосовом сегментах, экскавация диска зрительного нерва расширена, в некоторых отделах может доходить до его края;

- стадия III (далеко зашедшая) – граница поля зрения концентрически сужена и в одном или более сегментах находится менее чем в 15° от точки фиксации, краевая субтотальная экскавация диска зрительного нерва расширена;

- стадия IV (терминальная) – полная потеря остроты и поля зрения или сохранение светоощущения с неправильной проекцией. Иногда сохраняется небольшой островок поля зрения в височном секторе. Экскавация тотальная.

Распределение пациентов по стадиям было представлено следующим образом: с начальной стадией – 268 глаза (22,4 %), с развитой – 456 (38,0 %), с далеко зашедшей – 318 (26,6 %), с терминальной – 155 глаз (13,0 %).

В сравниваемых группах для оценки достоверности различий при нормальном распределении изучаемых признаков применяли параметрический критерий Стьюдента, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Методы описательной статистики использованы для характеристики групп пациентов по полу, возрасту, состоянию хрусталика и продолжительности лечения. Для работы с категориальными данными использован критерий хи-квадрат. Для сравнения эффективности моно- и комбинированной местной гипотензивной терапии в зависимости от стадии глаукомы использовали мультифакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Попарное сравнение с регулируемым множественным сравнением проведено с помощью Tukey-теста. Программное обеспечение – пакет анализа SPSS Statistics 17.0, Statistica 6.0.

ГЛАВА 3. СВЕТООПТИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННО- МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СКЛЕРЫ И УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФИЛЬТРАЦИОННЫХ ПОДУШЕК В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ МЕСТНЫХ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В данной главе представлены результаты изучения склеры и фильтрационных подушек в условиях применения местных гипотензивных препаратов по данным методов гистологического исследования склеральных лоскутов и ультразвуковой биомикроскопии.

3.1. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследование клеточных элементов и волокон склеры у впервые оперированных пациентов

Контрольной группой являлись образцы склеры 10 пациентов с ПОУГ, средний возраст которых составил $(69,0 \pm 3,8)$ лет, 9 мужчин и 1 женщина, не применяющие местные препараты. Группу сравнения составили образцы 64 пациентов репрезентативного возраста, 37 мужчин и 27 женщин, с диагнозом ПОУГ, применяющие местные гипотензивные препараты.

Проведено светооптическое и электронно-микроскопическое исследование двух групп пациентов с декомпенсированным ВГД, в силу ряда причин не применяющих местную гипотензивную терапию и применяющих различные комбинации местной гипотензивной терапии (см. таблицу 1).

У впервые оперированных пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД структурная организация склеры довольно сильно варьировала и не зависела от стадии глаукомы и возраста. Лишь в нескольких наблюдениях на препаратах определялись элементы корнеосклеральной трабекулярной сети либо участки ЮКТ (рисунки 1, 2). Иногда они содержали одиночные или многочисленные зерна меланина, фагоцитируемые полиморфными макрофагами.

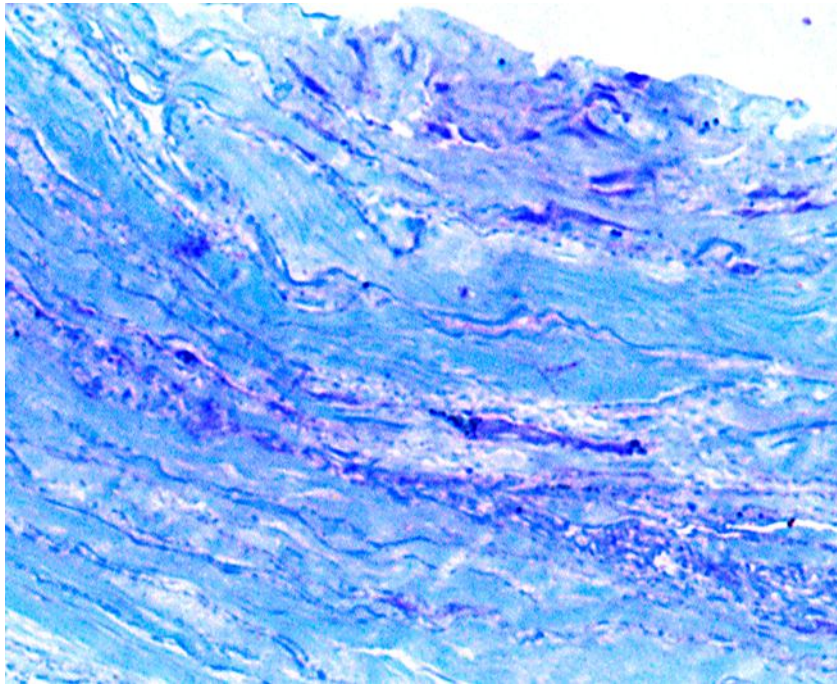


Рисунок 1 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Справа вверху – юстаканаликулярная ткань плотного строения, содержащая матрикс-продуцирующие клетки и отдельные мелкие зерна меланина. В склере коллекторные канальцы и водяные вены с редуцированными просветами. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 450

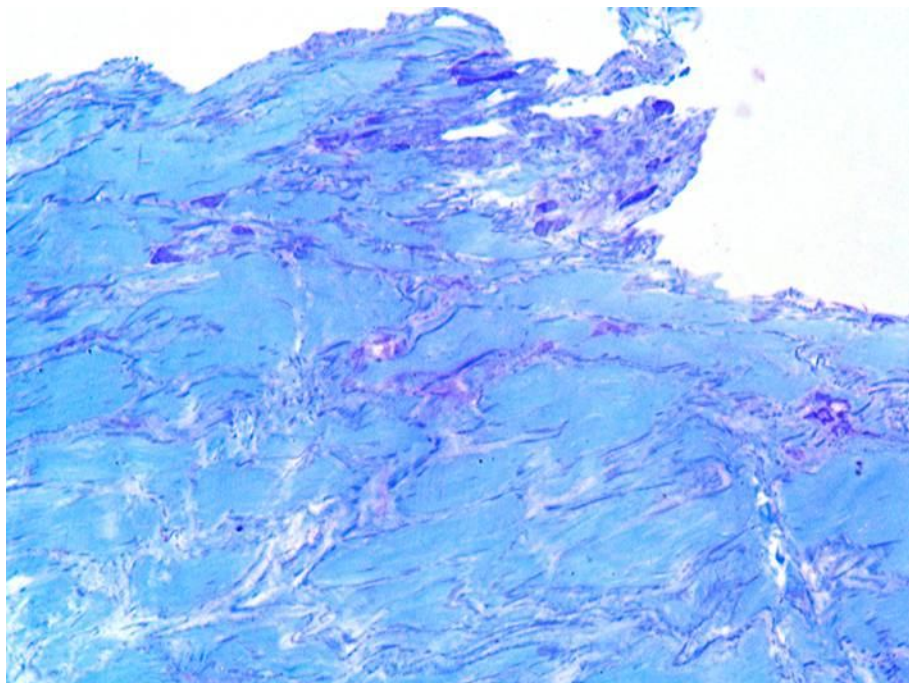


Рисунок 2 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Вверху – участок юстаканаликулярной ткани неплотного строения. К одиночным элементам лимфодренажной системы приурочены мононуклеарные клетки. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 350

Почти в половине наблюдений юкстаканаликулярная и прилежащая к ней плотная соединительная ткань имели компактное, плотное строение с уплощенными или дегенерирующими трабекулярными клетками и резко редуцированными свободными пространствами. В другой половине наблюдений юкстаканаликулярная ткань выглядела немного отечной, разволокненной, иногда с крупными и несколько более многочисленными фибробластами и эндотелиоцитами, в некоторых препаратах – с плазматическим пропитыванием и наличием одиночных эритроцитов.

Коллекторные каналы, в отличие от водяных вен, с относительно узкими просветами, выстланы уплощенным эндотелием (рисунок 3); некоторые из них содержали довольно крупные зерна меланина, что свидетельствует о нарушениях трабекулярной сети, поскольку последняя сообщается с просветом шлеммова канала лишь с помощью пор в эндотелиальных клетках. Водяные вены с широкими просветами, иногда пролиферирующим эндотелием и периваскулярной клеточной инфильтрацией, в составе которой доминировали матрикс-продуцирующие клетки, и встречались одиночные лимфоциты (рисунок 4).

Электронно-микроскопическое исследование склеральных лоскутов продемонстрировало умеренные деструктивные и внутриклеточные регенераторные процессы клеточных элементов и волокон основного вещества соединительной ткани (рисунок 5), имеющие место в компартменте коллекторных канальцев. Среди матрикс-продуцирующих клеток доминировали фиброциты с узким ободком цитоплазмы, узкими длинными отростками, со слабо развитым комплексом белоксинтезирующих органелл. Как правило, они были «замурованы» в плотные массы упорядоченных коллагеновых фибрилл.

В свою очередь, фибробласты локализовались вблизи элементов дренажной системы склеры, имели более крупные размеры и ядра, и клетки в целом, характеризуясь более округлой формой без длинных отростков. В более электронно-светлой по сравнению с фиброцитами цитоплазме локализовались каналы гранулярной цитоплазматической сети, митохондрии и везикулы, отражающие повышенную транспортную активность.

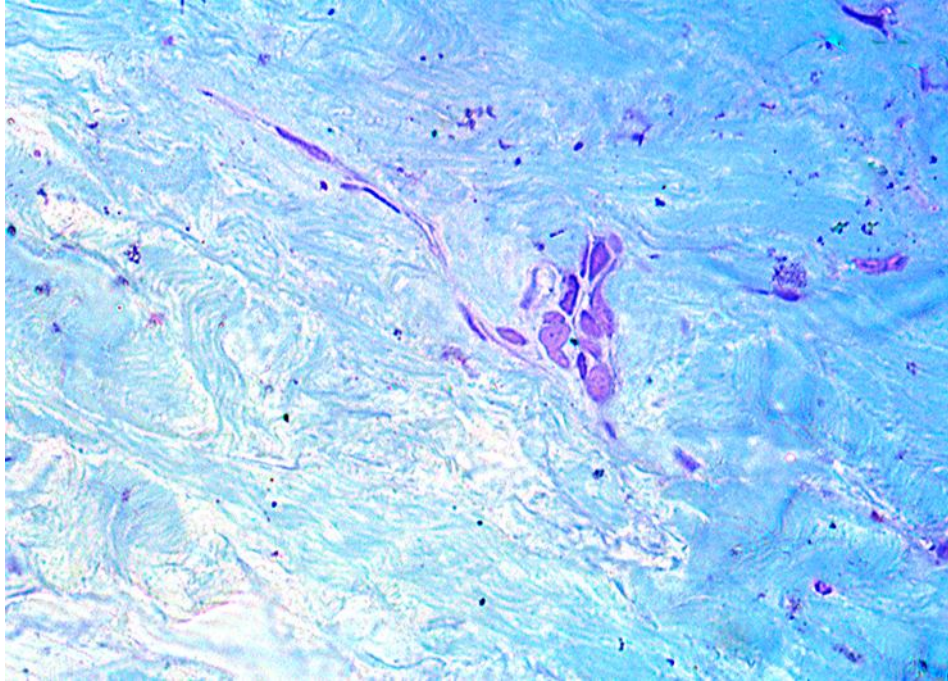


Рисунок 3 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Коллекторные каналы с узкими просветами. Неравномерная плотность волокон и экстрацеллюлярного матрикса склеры. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 650

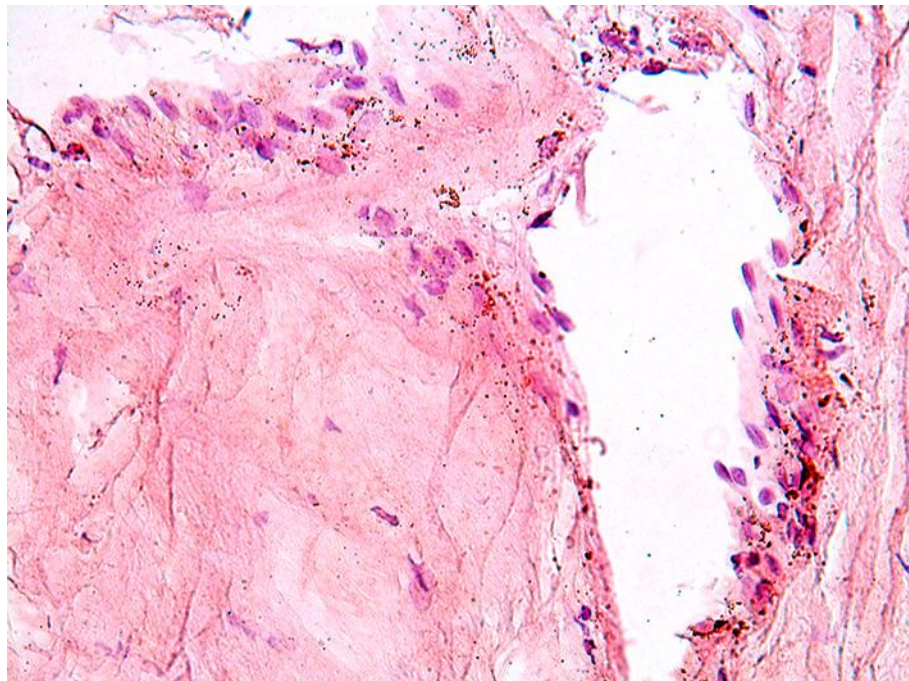


Рисунок 4 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Водяные вены с широкими просветами, крупными эндотелиоцитами; периваскулярные зерна меланина и скопления матрикс-продуцирующих клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 650

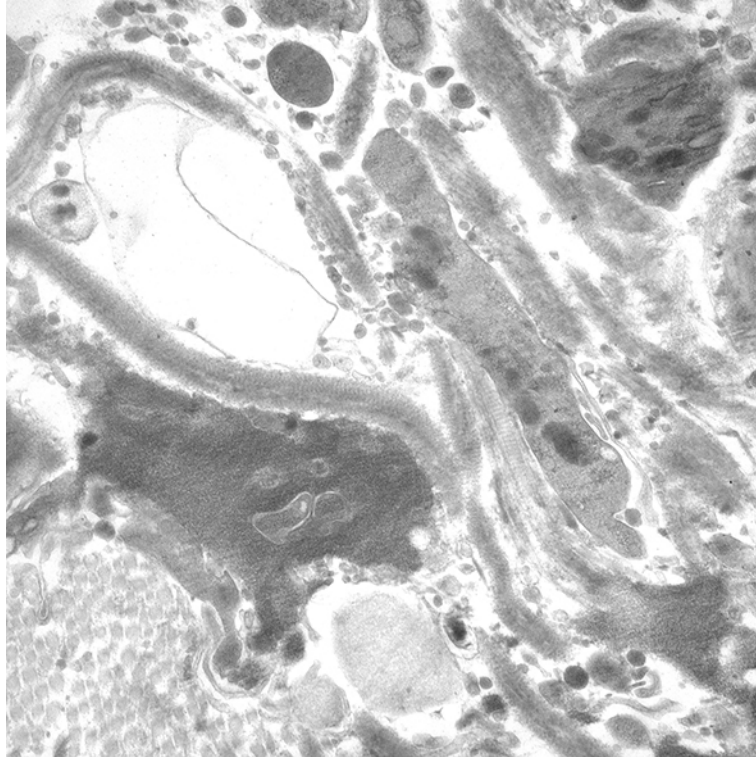


Рисунок 5 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Высокая осмиофильность и деструкция фибробласта; фрагменты разрушенных клеток; отек межклеточного матрикса. Электронная микроскопия. Ув. 12000

В коллекторных канальцах ширина просветов часто зависела от величины ВГД и достигала максимума с нарушением целостности эндотелиальной выстилки у пациентов, не использующих местные гипотензивные препараты (рисунки 6, 7, 8). Отмечены маргинальная конденсация хроматина в ядрах эндотелиоцитов, расширенные ядерные поры и вакуоли в перикарионах; при этом локализация двух перикарионов рядом может косвенно свидетельствовать о пролиферативной активности эндотелиоцитов, последующей за повреждением.

Несмотря на высокую осмиофильность цитоплазматического матрикса и наличие аутофагосом и резидуальных телец, в некоторых клетках отмечены крупные митохондрии с тонкими, беспорядочно ориентированными кристами и электронно-светлым матриксом (см. рисунки 7 и 8), что свидетельствует о сохранении энергопродуцирующего потенциала эндотелиоцитов, обеспечивающих дренажную функцию коллекторных канальцев.

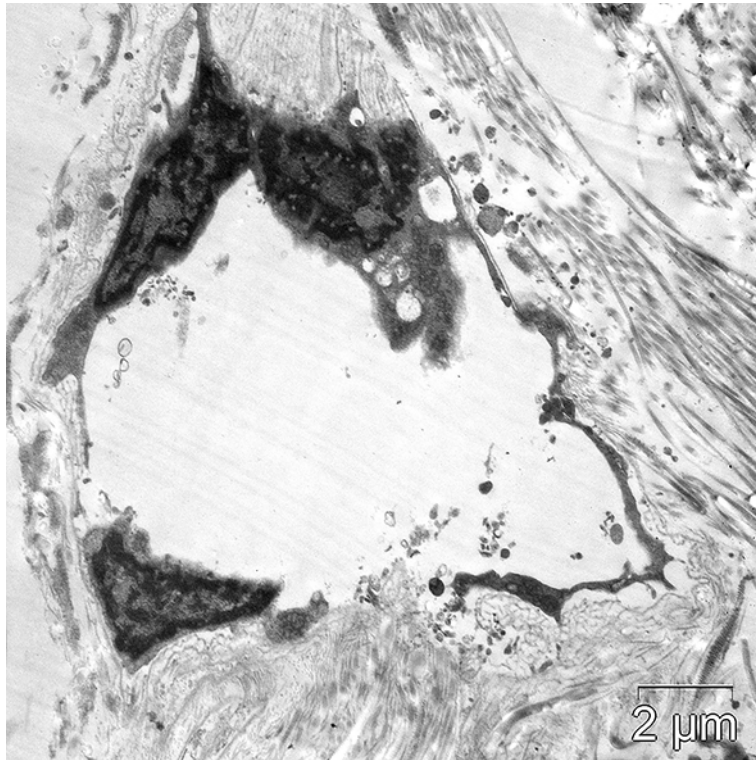


Рисунок 6 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Коллекторный каналец: расширенный просвет, нарушение целостности эндотелиальной выстилки. Отсутствие базальной мембраны. Электронная микроскопия. Ув. 12000

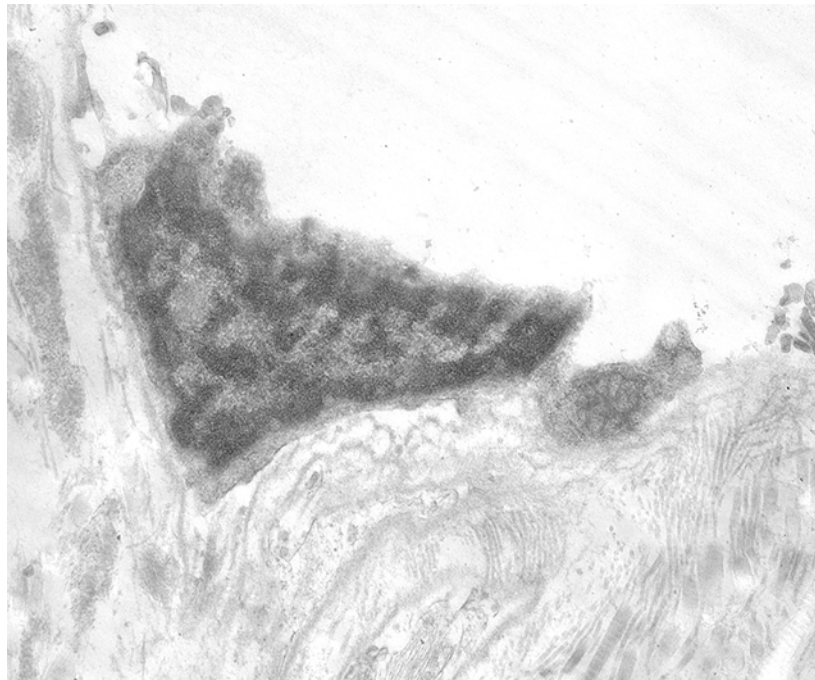


Рисунок 7 – Фрагмент предыдущего рисунка. Эндотелиоцит с высокой осмиофильностью цитоплазматического матрикса и маргинальным гетерохроматином, в перикарионе крупная митохондрия с тонкими кристами. Электронная микроскопия. Ув. 25000

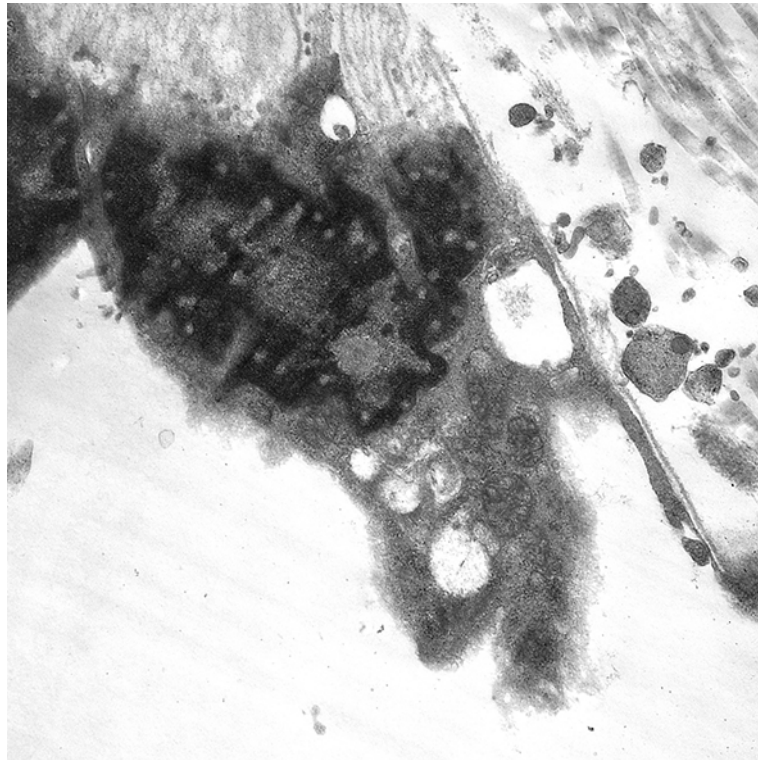


Рисунок 8 – Фрагмент рисунка 6. Маргинальная конденсация хроматина и расширенные ядерные поры в ядре эндотелиоцита; в цитоплазме вакуоли и многочисленные митохондрии. Электронная микроскопия. Ув. 30000

Характеризуя пациентов, следует отметить, что контрольной группой являлись 10 пациентов с ПОУГ, средний возраст которых составил $(69,0 \pm 3,8)$ лет, 9 мужчин и 1 женщина, не применяющие местные препараты. Все пациенты обращались с жалобами на снижение остроты зрения. По данным анамнеза, страдают глаукомой в течение периода от 6 мес до 5 лет. Эту группу составили в основном пациенты с развитой и далеко зашедшей стадиями ПОУГ, с декомпенсированным ВГД. Острота зрения у данных пациентов по таблице Сивцева-Головина составила от 1 до 3-х строчек; у всех диагностировалась неполная осложненная катаракта. Больше половины пациентов страдали артериальной гипертензией.

Группу сравнения составили 64 пациента, репрезентативного возраста, 35 мужчин и 27 женщин, с основным диагнозом ПОУГ, применяющие местные гипотензивные препараты. Из них 7 пациентов с начальной, 23 – с развитой, 28 – с далеко зашедшей и 6 пациентов – с терминальной стадиями. По данным анамнеза, глаукома диагностирована в среднем $(6,3 \pm 1,4)$ лет назад. Острота

зрения у данной группы в зависимости от стадии ПОУГ составила: начальная стадия – $(0,9 \pm 0,07)$, развитая – $(0,25 \pm 0,02)$, далеко зашедшая – $(0,25 \pm 0,07)$ и терминальная – $(0,003 \pm 0,001)$. Нельзя не учитывать и фактор катаракты, способный повлиять на показатели визометрии: прозрачный хрусталик определялся у 13 пациентов, начальная катаракта у 9-х, незрелая катаракта у 26, зрелая катаракта у 7-х, и у 9-х пациентов была артифакция. ТонOMETрические показатели во всех стадиях характеризовались как повышенные. У всех пациентов присутствовала сопутствующая соматическая патология: у 100% пациентов – артериальная гипертензия и у 8 % – сахарный диабет 2 типа.

Таким образом, светооптическое исследование парафиновых, полутонких и ультратонких срезов склеральных лоскутов впервые оперированных пациентов не выявило каких-либо достоверных закономерностей в структурной организации соединительной ткани в зависимости от применяемой до антиглаукомной операции схемы медикаментозной моно- или комбинированной терапии.

3.2. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследование клеточных элементов и волокон склеры у повторно оперированных пациентов

Третью группу составили 38 пациентов с рефрактерным течением ПОУГ в возрасте от 45 до 83 лет, 25 мужчин и 13 женщин, страдающих ПОУГ в течение многих лет. Эту группу составили пациенты с развитой стадией – 9, с далеко зашедшей стадией – 25 и с терминальной стадией – 4 пациента. Острота зрения у них составляла: II стадия – $(0,375 \pm 0,2)$, III стадия – $(0,15 \pm 0,12)$ и IV стадия – $(0,001 \pm 0)$. Хрусталик характеризовался различной степенью помутнения: у 10 пациентов диагностирована начальная катаракта, у 15 – неполная осложненная и у 13 – артифакция. Соматическая патология – артериальная гипертензия и сахарный диабет 2 типа.

В анамнезе – различного типа антиглаукомные операции; последняя операция – глубокая склерэктомия, приведшая к снижению ВГД на срок около

одного года. После повышения офтальмотонуса была назначена местная гипотензивная терапия различными группами препаратов, не приведшая к компенсации офтальмотонуса, хотя бы толерантному значению ВГД.

У пациентов с рефрактерным течением ПОУГ склеральные лоскуты иссекали перифокально предыдущей склерэктомии и реже – на большем удалении от зоны первичного хирургического вмешательства. По данным УБМ искусственно созданных путей оттока ВГЖ, у большинства пациентов фильтрационная подушка была плоской, с щелевидной или редуцированной интрасклеральной полостью; у половины пациентов отмечена гиперэхогенность при отсутствии микрокист.

Важно отметить, что для оценки морфологии фильтрационной подушки и раннего прогнозирования ее потенциальной недостаточности (чтобы препятствовать склерозированию) применяют различные классификационные подходы. Согласно им, наиболее частой разновидностью неуспеха фильтрационной хирургии является субконъюнктивальный рубец, который требует интенсификации послеоперационного наблюдения за фильтрационной подушкой, даже если ВГД остается хорошо контролируемым [240].

Образцы склеральных лоскутов повторно оперированных пациентов отличались сравнительно более выраженной, но неравномерной пролиферативной реакцией фибробластов (рисунок 9), которые в ряде наблюдений участвовали в формировании перивенулярных клеточных инфильтратов и гранулем вдоль краев резекции (рисунок 10).

В соединительной ткани склеры, как и у впервые оперированных пациентов, в популяции матрикс-продуцирующих клеток преобладали фиброциты, т.е. функционально менее активные клетки. Однако, сравнительно чаще были видны фокусы пролиферации, в которых доминировали морфологически переходные формы, промежуточные между фиброцитами и фибробластами.

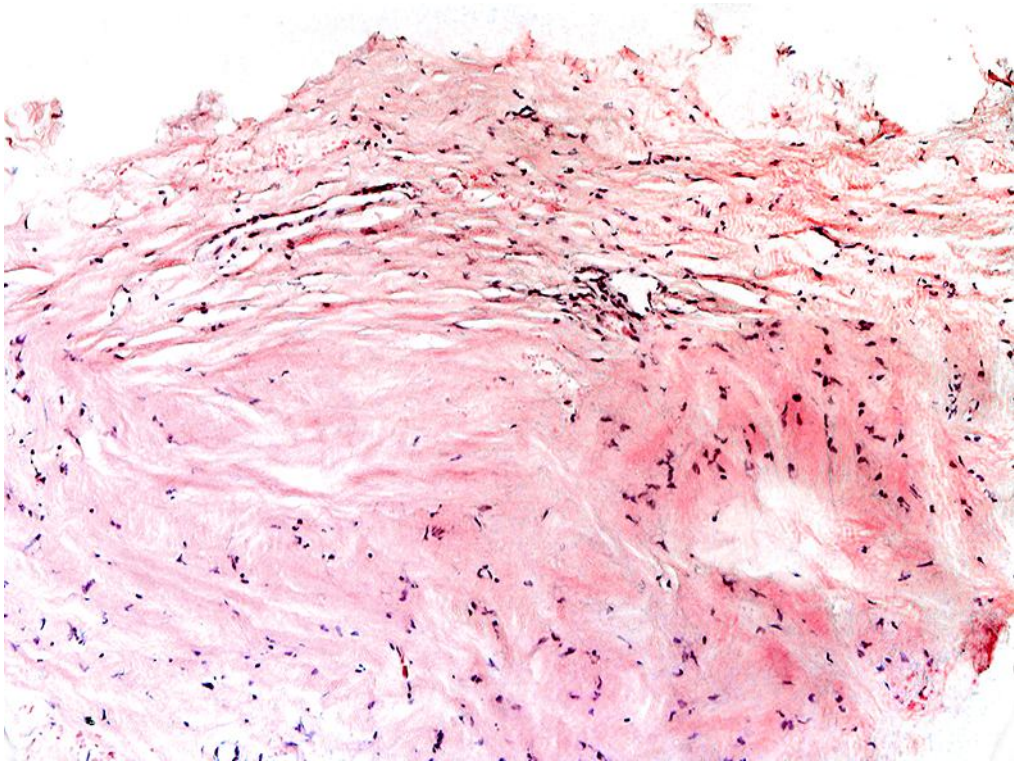


Рисунок 9 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Расширенные просветы коллекторных канальцев и водяных вен. Справа – выраженная очаговая пролиферация фибробластов, эозинофилия основного вещества соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 160

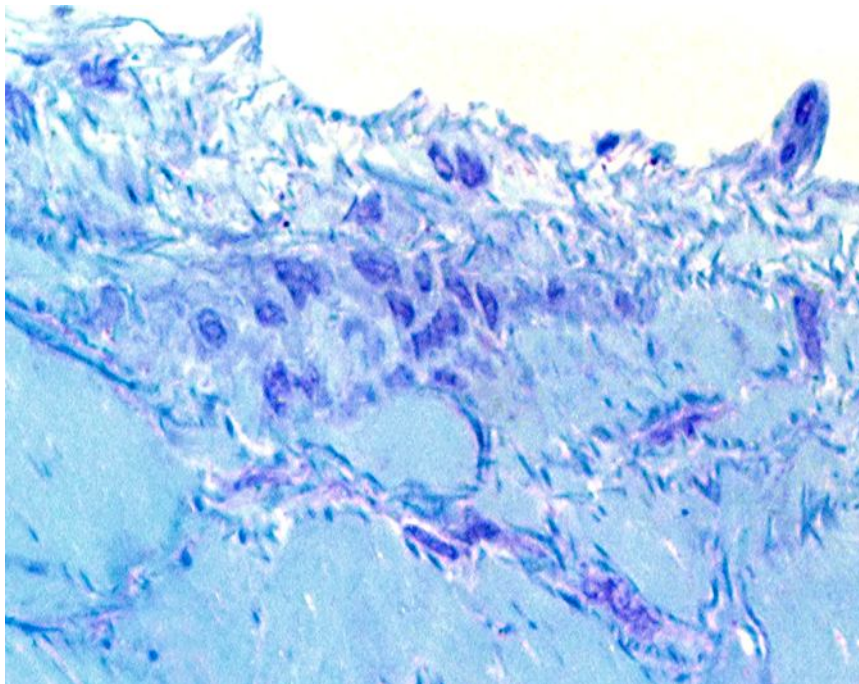


Рисунок 10 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Выраженная очаговая пролиферация фибробластов у края резекции. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 900

Следует подчеркнуть, что у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ резецированные в ходе антиглаукомной операции склеральные лоскуты резко варьировали по структурной организации соединительнотканых элементов, прямо коррелируя с эхоплотностью выявляемой биомикроскопически фильтрационной подушки, в том числе и стенок интрасклеральной полости. В подавляющем большинстве случаев образец содержал элементы плотной фиброзной ткани – параллельные или разнонаправленные пучки коллагеновых фибрилл с локализующимися между ними отростками клеток и разрушенными клеточными элементами. Одновременно с этим вдоль элементов лимфодренажной системы глаза – как правило, коллекторных канальцев с резко суженными просветами – имелись участки светооптического «разрежения» и отека волокнистых структур и внеклеточного матрикса, сочетающиеся с пролиферацией клеток – фибробластов, демонстрирующих высокую пролиферативную и биосинтетическую активность.

Морфологически фиброциты, или зрелые фибробласты, представляли собой клетки с умеренно гиперхромным ядром с гладкими контурами, суженным пространством нуклеолеммы, без ядерных пор, без ядрышек, лишь с глыбками гетерохроматина, а также с узким ободком цитоплазмы (рисунок 11), в котором определялись лишь единичные свободные рибосомы и одиночные мелкие митохондрии. Клетки часто содержали довольно многочисленные актиновые микрофибриллы. Перицеллюлярно локализовались плотные толстые коллагеновые фибриллы различного диаметра и электронной плотности, что могло быть связано с деградацией и взаимодействием с протеогликанами (рисунок 12).

Функционально более активные матрикс-продуцирующие клетки характеризовались сравнительно большими размерами, более округлой формой и наличием цитоплазматических отростков. Ядра фибробластов были более эухромными, но с крупными глыбками гетерохроматина, встречались одно – два ядрышка.

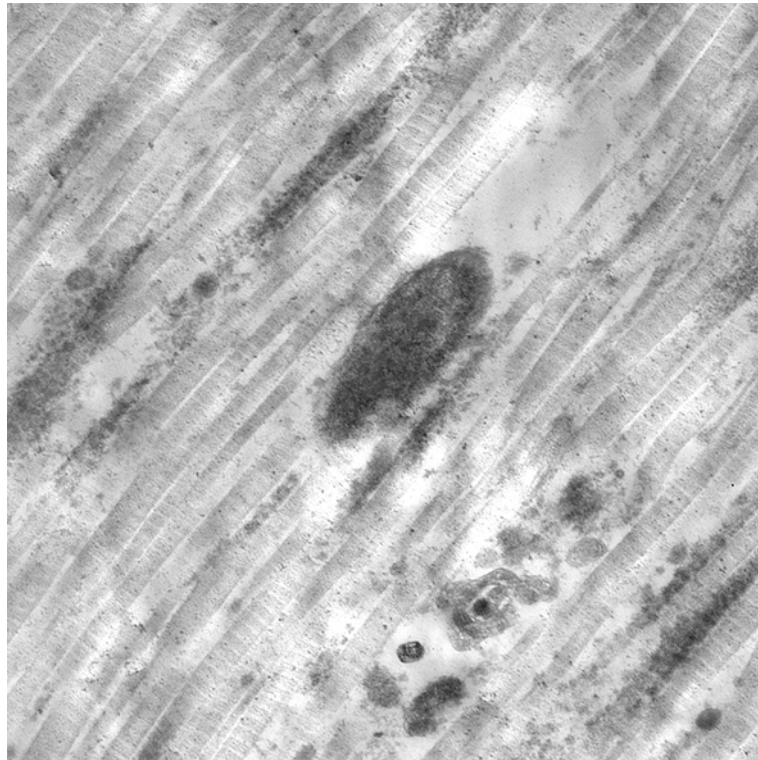


Рисунок 11 – Поперечно ориентированный фиброцит и параллельные толстые коллагеновые фибриллы в склере повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 12000

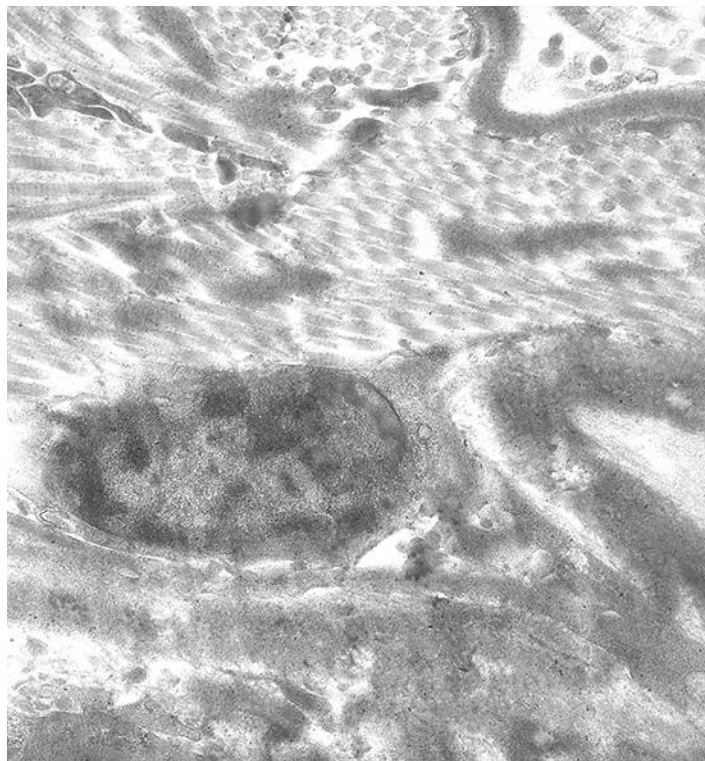


Рисунок 12 – Фиброцит и хаотично ориентированные волокна различной осмиофильности с преобладанием коллагеновых фибрилл в склере пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 10000

Ультраструктурные особенности цитоплазмы клеток характеризовались сравнительно менее плотным цитоплазматическим матриксом и большим числом биосинтетических органелл. Среди них преобладали узкие профили и каналы гранулярной цитоплазматической сети с различным количеством прикрепленных рибосом, везикулы и митохондрии различных размеров с преимущественно редкими и тонкими кристами. Кроме того, клетки содержали крупные вакуоли и многочисленные цитоплазматические отростки, активно взаимодействуя с компонентами внеклеточного матрикса и соседними клетками (рисунок 13). Внеклеточный матрикс в таких случаях характеризовался полиморфизмом при отсутствии четкой пространственной организации волокнистых структур соединительной ткани.

Цитоплазматические отростки фибробластов, как и перикарионы этих клеток, содержали относительно более электронно-светлую эктоплазму, которая была заполнена преимущественно компонентами цитоскелета – актиновыми микрофибриллами, а также свободными рибосомами с наличием митохондрий, которые нередко подвергались разрушению, особенно крупные органеллы (рисунок 14).

Ультраструктурно переходные клеточные формы матрикс-продуцирующих клеток, промежуточные между фиброцитами и фибробластами, по-видимому, принимали участие в пролиферации (рисунок 15). Они локализовались преимущественно вокруг коллекторных канальцев и водяных вен, строма которых характеризовалась низкой электронной плотностью и тонкими волокнистыми структурами, погруженными в экстрацеллюлярный матрикс, продуцируемый, в свою очередь, фибробластами. Следует отметить, что ультраструктурные особенности матрикса и его компонентов резко варьировали и могли различаться в зависимости от выраженности цитодеструктивных и пролиферативных процессов в склере (рисунки 16, 17, 18).

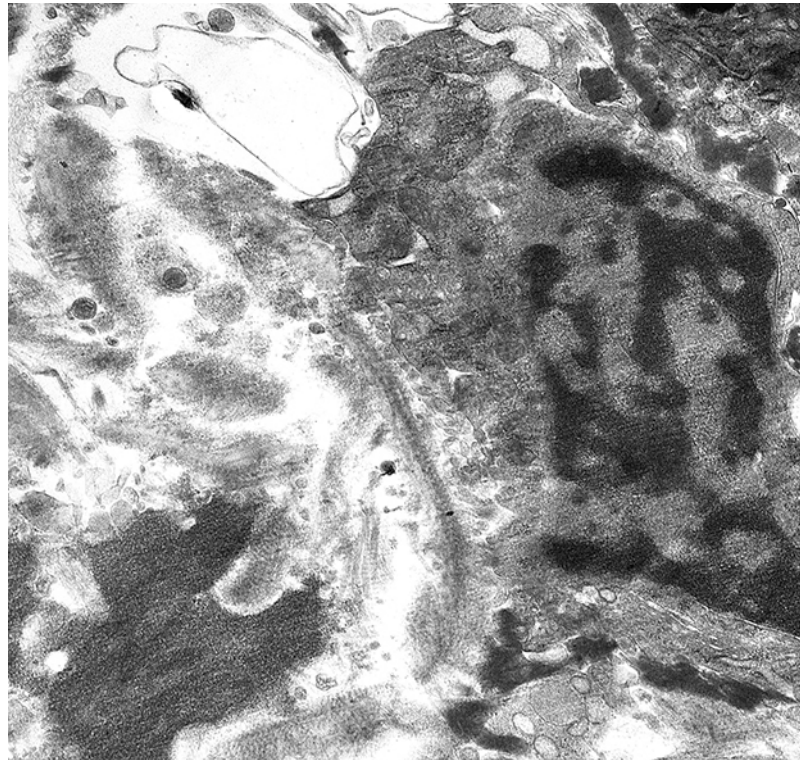


Рисунок 13 – Фибробласт с множеством цитоплазматических органелл и крупной вакуолью в склере повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 8000

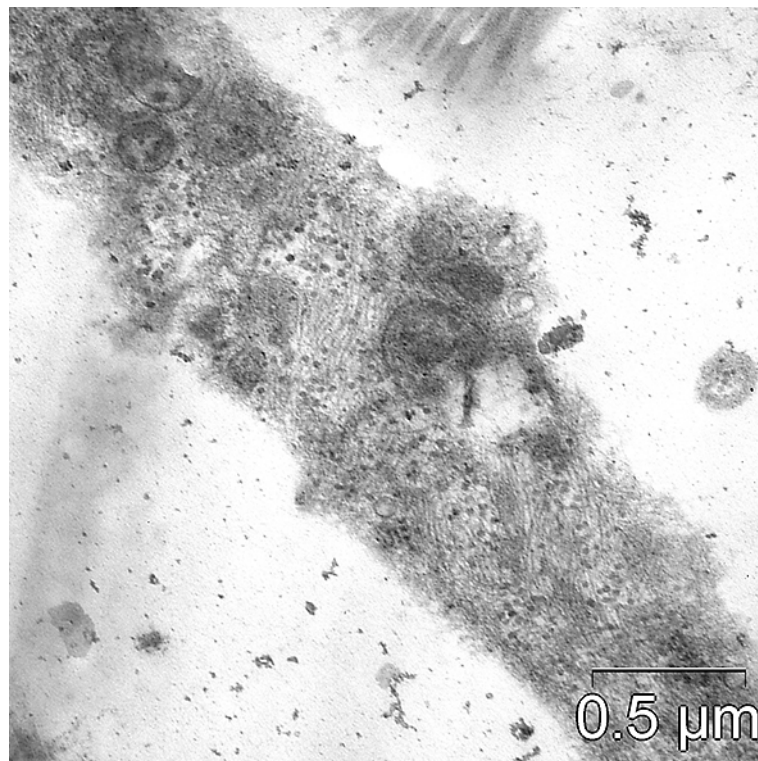


Рисунок 14 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Цитоплазматический отросток фибробласта: электронно-светлый цитоплазматический матрикс, множество рибосом, микрофибрилл, везикулы и митохондрии. Электронограмма. Ув. 30000

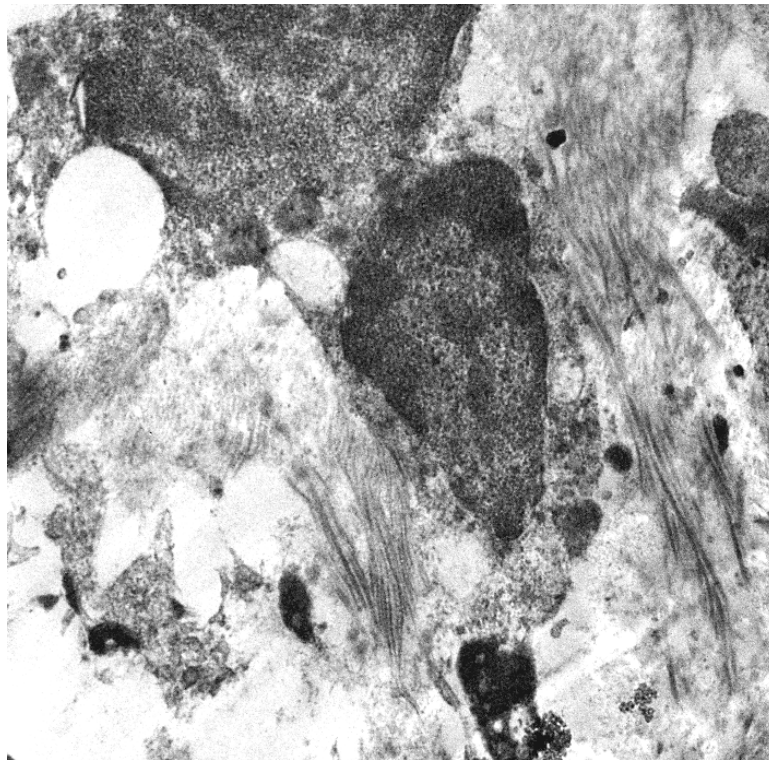


Рисунок 15 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Два фибробласта с умеренным содержанием цитоплазматических органелл. Перичеселлюлярно – тонкие ретикулярные и коллагеновые фибриллы. Электронограмма. Ув. 8000

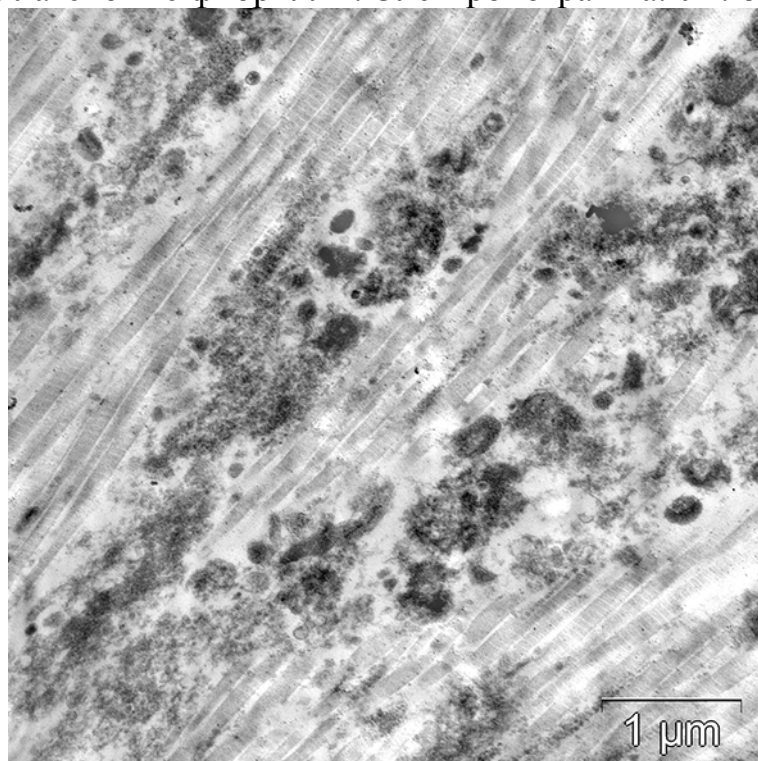


Рисунок 16 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Пучки коллагеновых фибрилл с клеточным детритом и конденсированными компонентами внеклеточного матрикса. Электронная микроскопия. Ув. 8000



Рисунок 17 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Остатки клеточных органелл, разволокнение и отек соединительной ткани. Электронограмма. Ув. 8000

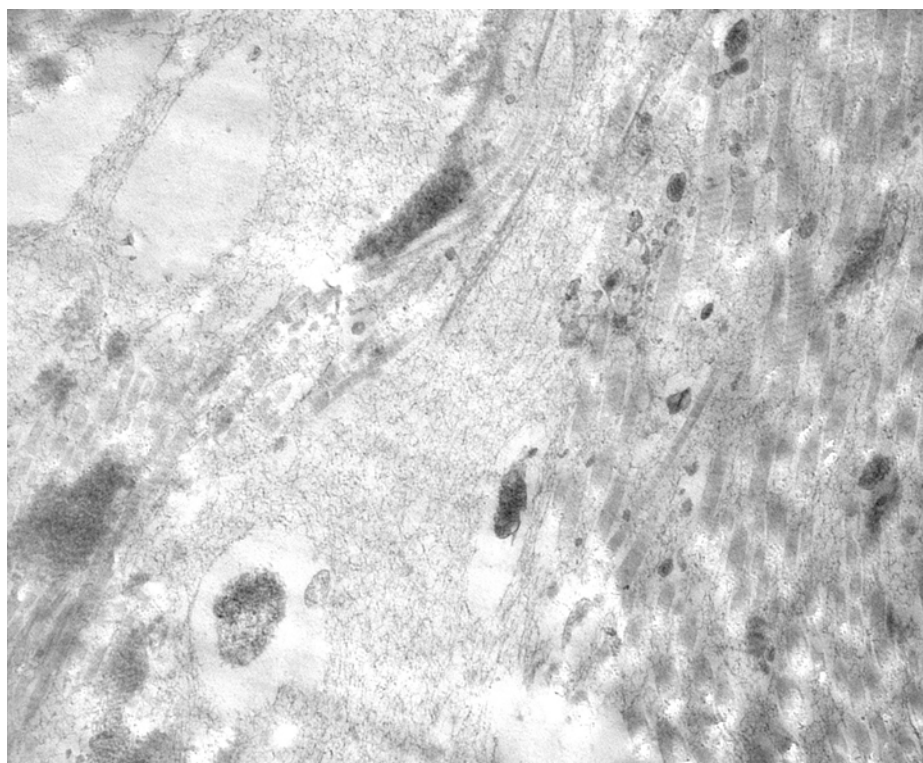


Рисунок 18 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Резко выраженный полиморфизм экстрацеллюлярного матрикса и фибрилл соединительной ткани в области лимфодренажных элементов склеры. Электронограмма. Ув. 8000

Коллекторные каналы и водяные вены имели полиморфное строение, в том числе различную ширину просветов и степень цитодеструкции эндотелиальной выстилки (рисунок 19).

Важно отметить, что волокна и основное вещество соединительной ткани в ряде препаратов формировали своеобразные оптически пустые каналы, организующие, по-видимому, функциональные пути оттока ВГЖ в межклеточном матриксе (рисунок 20).

Достаточно часто встречались миелинизированные нервные волокна с признаками деструкции миелина (рисунок 21) и сосудисто-нервные пучки с отеком и повреждением клеточных элементов.

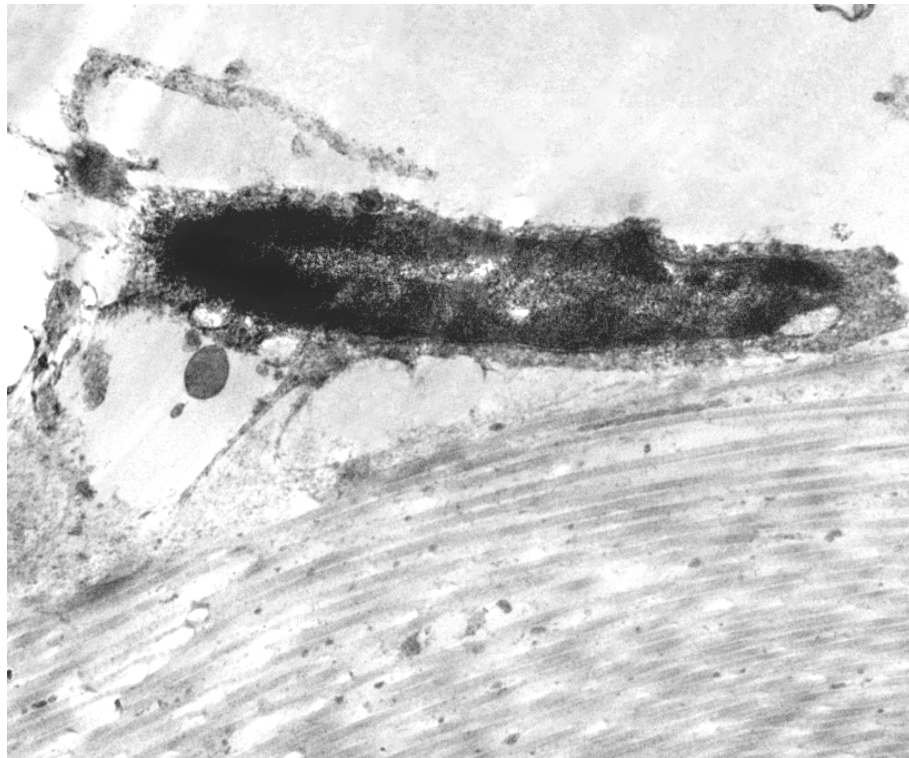


Рисунок 19 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерной ПОУГ. Высокая осмиофильность эндотелиоцита коллекторного канала, субэндотелиальный отек и параллельные коллагеновые фибриллы.

Электроннограмма. Ув. 8000

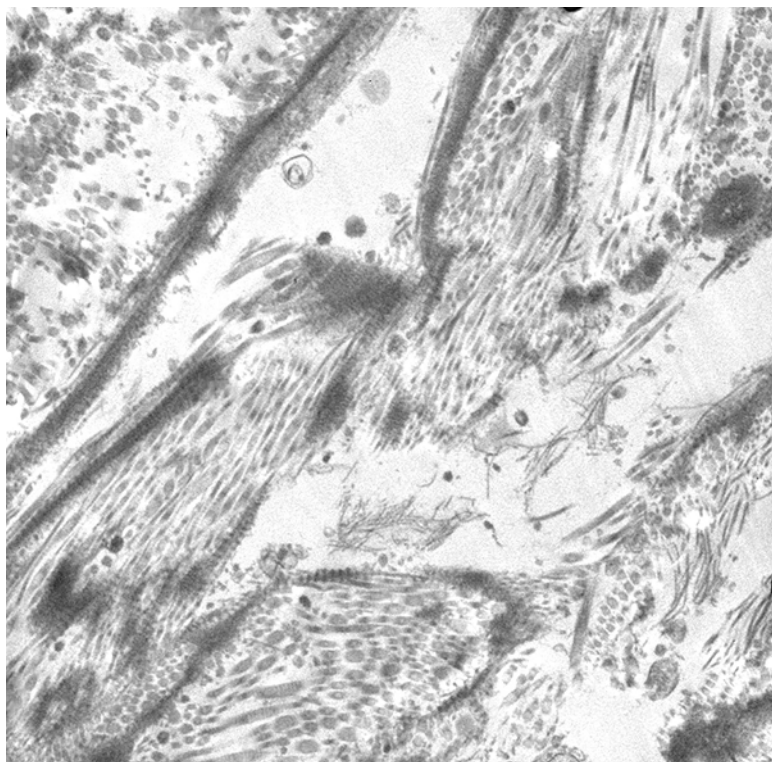


Рисунок 20 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерной ПОУГ. Отек внеклеточного матрикса и неравномерность локализации волокон соединительной ткани. Электронная микроскопия. Ув. 10000



Рисунок 21 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Миелинизированное нервное волокно с признаками деструкции миелина. Электронная микроскопия. Ув. 12000

3.3. Результаты ультразвуковой биомикроскопии зоны оперативного вмешательства при рефрактерном течении глаукомы в условиях применения местных гипотензивных средств

Цель настоящего раздела – с помощью УБМ оценить структурные изменения переднего отрезка глаза у пациентов с рефрактерным течением глаукомы в условиях применения для снижения уровня ВГД местных препаратов различных групп. Проанализированы 3 группы пациентов репрезентативного возраста, различающиеся по уровню ВГД в отдаленные сроки после хирургического лечения глаукомы: 1-я и 2-я группы – на фоне длительного лечения местными гипотензивными препаратами и 3-я группа – без консервативной терапии.

Первая группа – 41 пациент (42 глаза) с компенсированным ВГД среднее значение ВГД ($21,6 \pm 0,34$) мм рт. ст.; вторая группа – 41 пациент (42 глаза) с рефрактерным течением ПОУГ с декомпенсированным ВГД ($31,7 \pm 0,69$) мм рт. ст.; каждая из первых двух групп была дополнительно разделена на 4 подгруппы в зависимости от применяемых препаратов: аналоги простагландинов, β -блокаторы, комбинация аналогов простагландинов и β -блокаторов, комбинация β -блокаторов и ингибиторов карбоангидразы.

В 3-ю (контрольную) группу были включены 20 пациентов (20 глаз) с одной антиглаукомной операцией в анамнезе, со стойкой компенсацией ВГД ($17,2 \pm 0,53$) мм рт. ст., не нуждающихся в применении местных гипотензивных препаратов.

Пациентам с рефрактерным течением ПОУГ (2-я группа) выполнены две и более антиглаукомные операции проникающего типа, из них последняя – глубокая склерэктомия с достижением целевого ВГД и послеоперационным периодом без осложнений. Пациенты наблюдались по месту жительства; в среднем через 1–1,5 года у них повысилось ВГД, и были назначены гипотензивные препараты, которые снизили уровень ВГД до толерантного, но их действие было непродолжительно и составляло в среднем 1 год.

Причины неэффективной хирургии глаукомы у данных пациентов не предоставляется возможным перечислить, так как эти пациенты после оперативного вмешательства и выписки из стационара наблюдались по месту жительства, где и были назначены окулистом гипотензивные препараты. Возможно, повышению уровня ВГД способствовали индивидуальные (генетические) особенности пациентов, исходно высокий уровень ВГД, предшествующие оперативные вмешательства, псевдоэксфолиативный синдром, который диагностирован у всех пациентов, а также возраст пациента (7 пациентов 45–48 лет).

Обращали особое внимание на следующие УБМ-параметры: толщину конъюнктивального и склерального лоскутов, высоту интрасклеральной полости и высоту фильтрационной подушки, а также толщину роговицы.

Оценку параметров фильтрационной подушки проводили в соответствии с новой классификацией изменения путей оттока ВГЖ А. Г. Щуко и соавт. (2013) [86] : 0 баллов – границы подушки не дифференцируются; плоская фильтрационная подушка с дифференцируемыми границами и гиперэхогенным содежимым (1 балл) и гипозохогенным содежимым (2 балла); 3 балла – крупнокистозная; 4 балла – мелкокистозная подушка с четкими границами; 5 баллов – классическая фильтрационная подушка с гипо- и эхогенным содежимым.

При оценке толщины роговицы использовали классификацию Л. И. Балашевич и соавт. (2005) [16] : «ультратонкая» (менее 480 мкм); «тонкая» (481–520 мкм); «нормальная» (521–560 мкм); «толстая» (561–600 мкм); «ультратолстая» (более 600 мкм).

Определение функциональной состоятельности интрасклеральной полости и фильтрационной подушки осложнялось большим диапазоном ультразвуковой плотности исследуемых структур, что не всегда позволяло достаточно четко определить границы зоны путей оттока и ее функциональную состоятельность.

УБМ позволила оценить в различной степени выраженные изменения структур глаза, характеризующих состояние конъюнктивы и фиброзной оболочки,

а также фильтрационную подушку у повторно оперированных пациентов с рефрактерным течением глаукомы по сравнению с пациентами с одной антиглаукомной операцией в анамнезе (рисунки 22, 23, 24, 25).

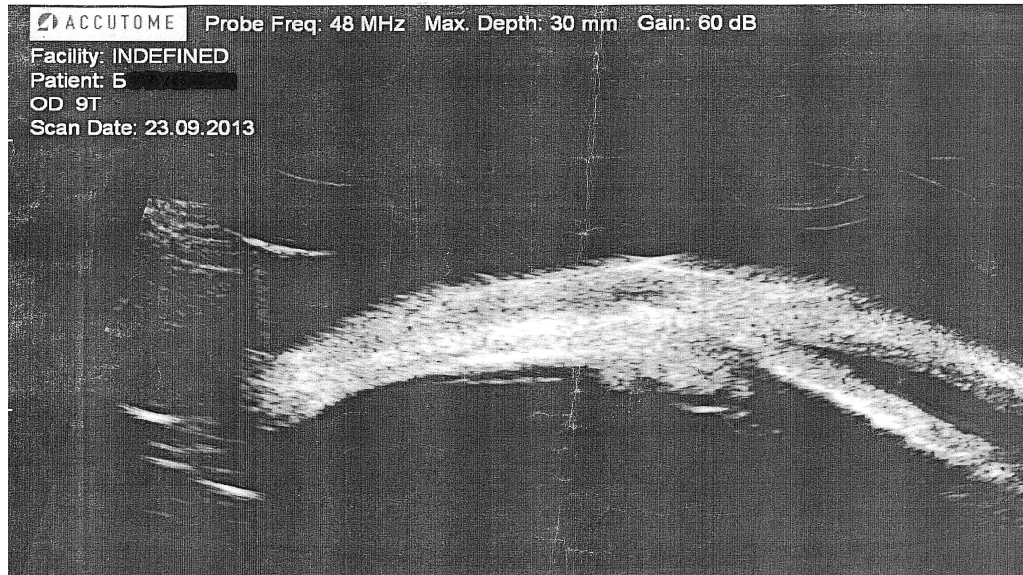


Рисунок 22 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 2,5 года после 2-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии; гипотензивная терапия аналогами простагландинов. Декомпенсированное ВГД (28 мм рт. ст.). Облитерация интрасклеральной полости, плоская фильтрационная подушка

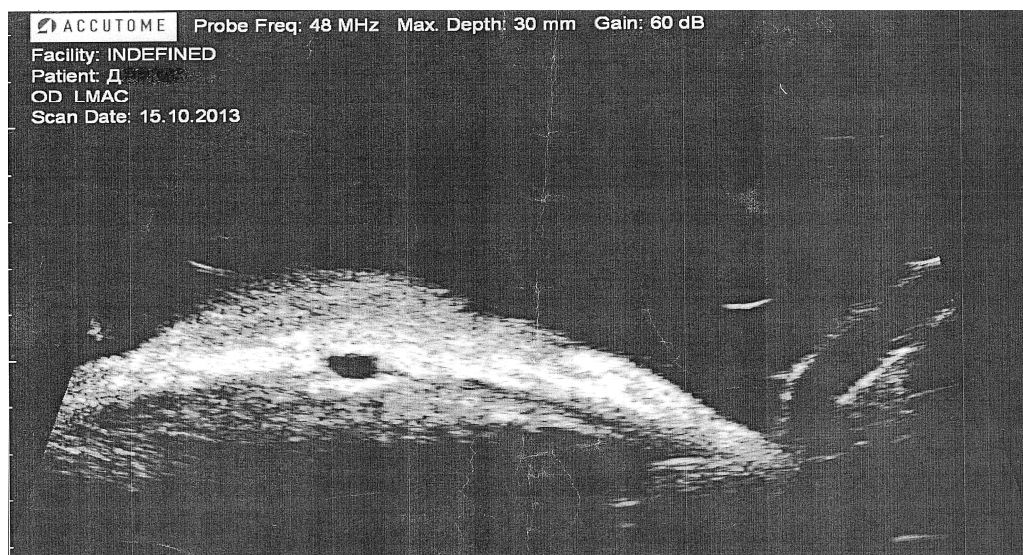


Рисунок 23 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 2,0 года после 2-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии с комбинированной терапией β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы до операции. Компенсированное ВГД (18 мм рт. ст.). Высокая интрасклеральная полость, выраженная фильтрационная подушка

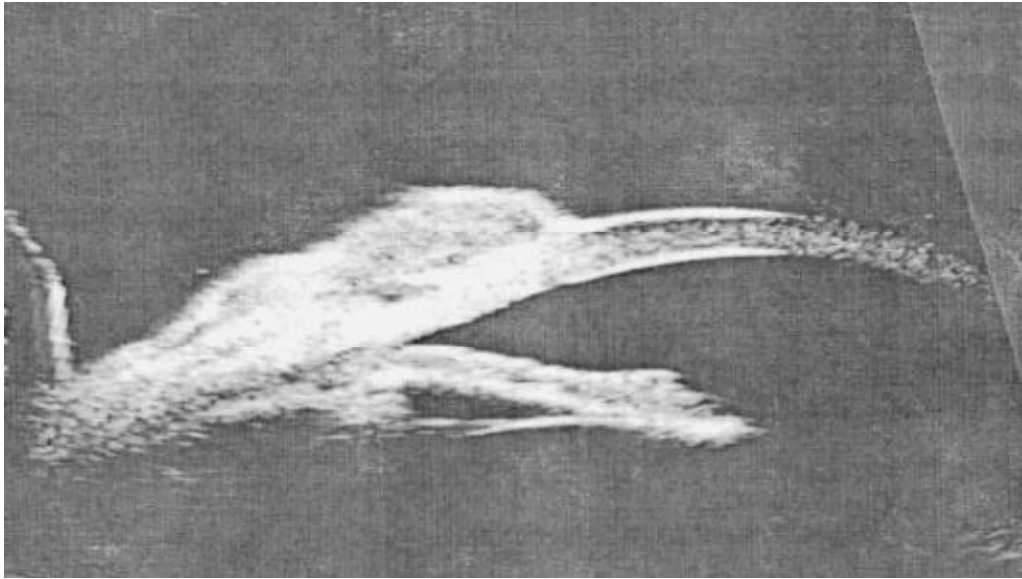


Рисунок 24 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 1 год после 1-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии, гипотензивная терапия β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы. Компенсированное ВГД (18 мм рт. ст.). Низкая интрасклеральная полость, кистозная фильтрационная подушка

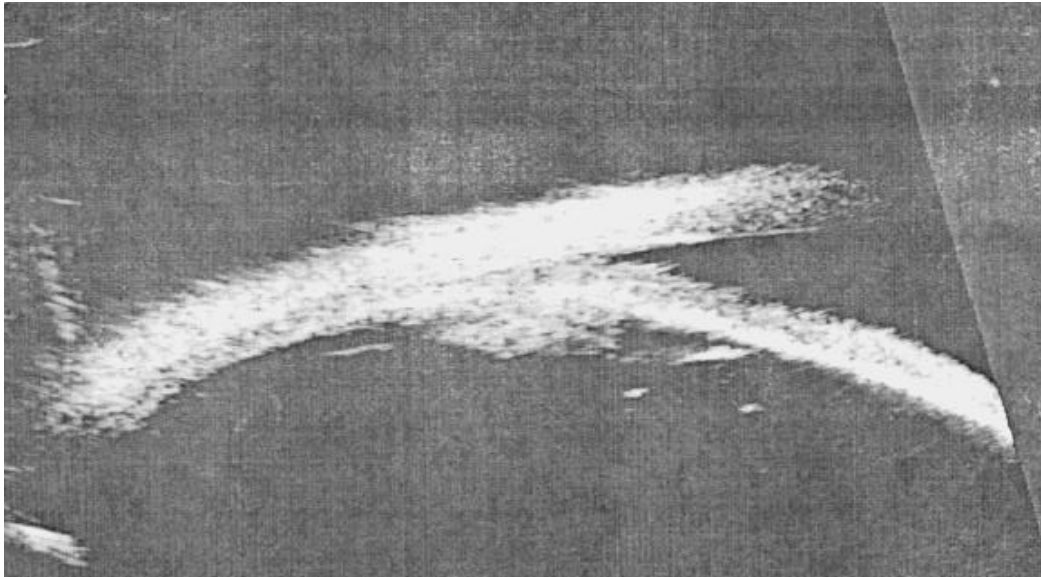


Рисунок 25 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 1,0 год после 1-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии с комбинированной терапией β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы до операции. Декомпенсированное ВГД (36 мм рт. ст.). Облитерация интрасклеральной полости, плоская фильтрационная подушка

У пациентов контрольной группы толщина конъюнктивального лоскута составила $(0,80 \pm 0,05)$ мм (рисунок 26, таблица 2), что достоверно превышало этот показатель во всех подгруппах обеих групп наблюдения за исключением пациентов 2-й группы, использующих комбинированную терапию β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы, средний показатель которых в 2 и более раз превышал таковой у пациентов других подгрупп. При этом толщина конъюнктивального лоскута у пациентов 2-й группы с компенсированным ВГД всегда достоверно ($p \leq 0,01$) и ($p \leq 0,001$) превосходила показатели пациентов 3-й группы с декомпенсированным ВГД.

Следует отметить, что показатель толщины конъюнктивального лоскута отражает адекватную степень компенсации ВГД: у пациентов 2-й группы с компенсированным ВГД, принимающих β -блокаторы и ингибиторы карбоангидразы, ее толщина составила $(0,74 \pm 0,03)$ мм, в наибольшей мере приближаясь к контрольному значению.

УБМ-параметры фиброзной оболочки глаза, состоящей из роговицы и склерального лоскута, у пациентов 2-й и 3-й групп были изменены в меньшей степени, чем конъюнктивальный лоскут. Среднее значение толщины роговицы у пациентов контрольной группы составило $(0,596 \pm 0,10)$ мм, что соответствует критерию «толстой» роговицы по классификации А. Г. Щуко и соавт. (2013) и одновременно не отличается от показателя пациентов 3-й группы с декомпенсированным ВГД, использующих аналоги простагландинов $(0,575 \pm 0,01)$ мм и их сочетание с β -блокаторами $(0,593 \pm 0,03)$ мм; кроме того, толстая роговица отмечена у пациентов с компенсированным ВГД, применяющих монотерапию β -блокаторами $(0,570 \pm 0,04)$ мм [86].

При этом в других подгруппах толщина роговицы характеризовалась как «нормальная» по классификации, и лишь в одной подгруппе из 8-ми расценивалась как «тонкая» $(0,499 \pm 0,04)$ мм, что отражает достаточно широкую вариабельность этого показателя у пациентов с глаукомой [77].

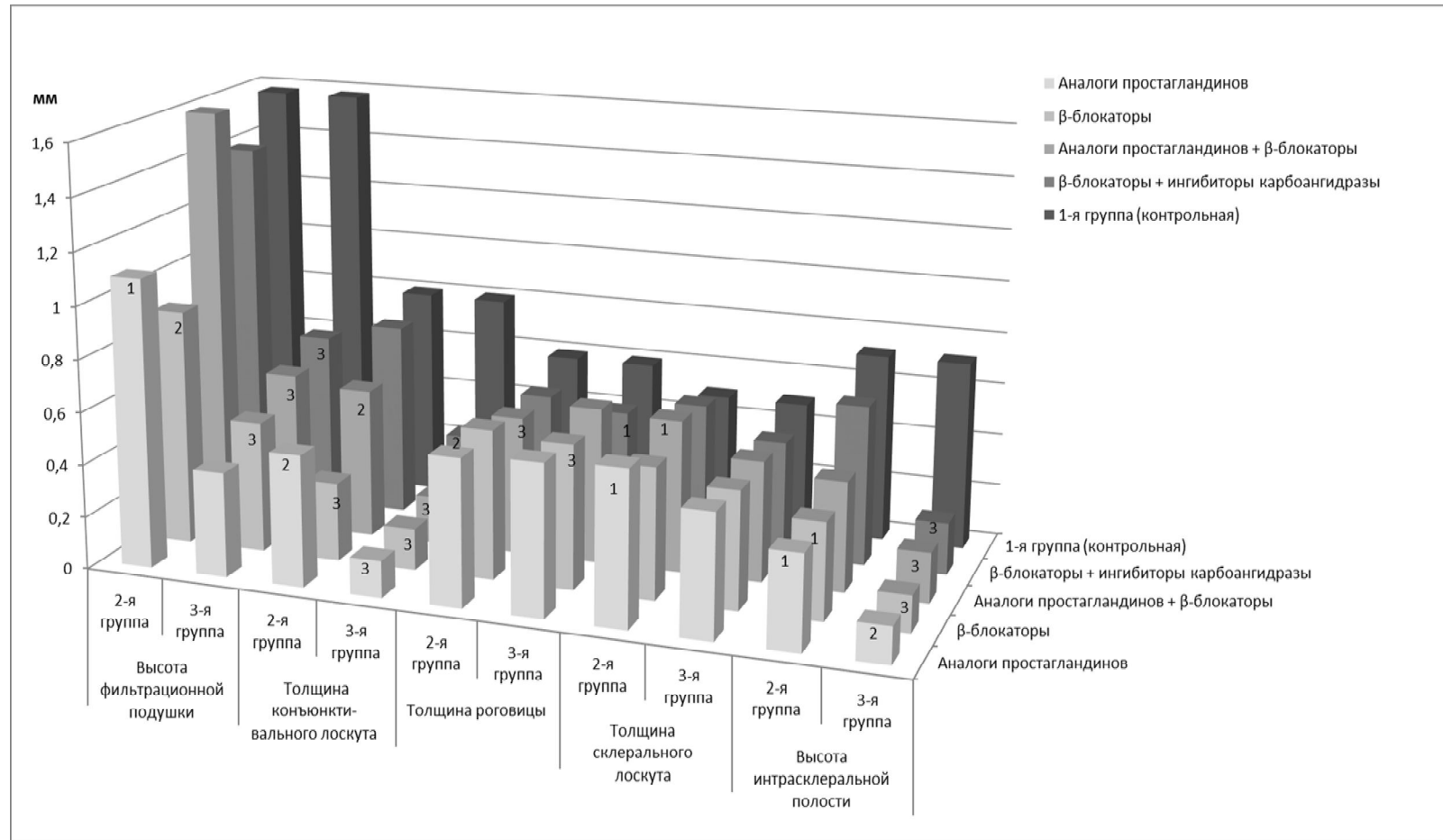


Рисунок 26 – Сравнительный анализ средних параметров послеоперационной ультразвуковой биомикроскопии (УБМ) переднего отрезка глаза у пациентов с компенсированным (2-я группа) и декомпенсированным (3-я группа) внутриглазным давлением, использующих местные гипотензивные препараты или их сочетания. При сравнении с контрольными показателями : 1 – ($p \leq 0,05$), 2 – ($p \leq 0,01$), 3 – ($p \leq 0,001$).

Таблица 2 – Результаты ультразвуковой биомикроскопии вновь созданных путей оттока ВГЖ при ПОУГ с компенсированным и декомпенсированным ВГД при применении местных гипотензивных препаратов ($M \pm m$)

Параметры УБМ, мм	Местные гипотензивные препараты				Контроль- ная группа (n = 20)
	Аналоги простагла- ндинов (n = 10)	β-блокаторы (n = 10)	Аналоги простаглан- динов + β- блокаторы (n = 12)	β- блокаторы + ингибито- ры карбоангид разы (n = 10)	
Высота интрасклера- льной полости	0,36 ± 0,02*	0,37 ± 0,02*	0,42 ± 0,03	0,61 ± 0,17	0,72 ± 0,16
	0,14 ± 0,02* *	0,14 ± 0,01***	0,19 ± 0,01***	0,20 ± 0,02* **	
Высота фильтрацион- ной подушки	1,10 ± 0,11*	0,90 ± 0,06**	1,60 ± 0,005	1,40 ± 0,07	1,58 ± 0,03
	0,40 ± 0,11	0,50 ± 0,06***	0,60 ± 0,02***	0,67 ± 0,09* **	
Толщина конъюнктив- ального лоскута	0,50 ± 0,09* *	0,30 ± 0,03***	0,57 ± 0,01**	0,74 ± 0,03	0,80 ± 0,05
	0,14 ± 0,09* **	0,16 ± 0,01***	0,18 ± 0,03***	0,33 ± 0,1**	
Толщина склерального лоскута	0,59 ± 0,01*	0,50 ± 0,01	0,58 ± 0,02*	0,55 ± 0,01	0,50 ± 0,03
	0,47 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,44 ± 0,0	
Центральная толщина роговицы	0,558 ± 0,03	0,570 ± 0,04	0,526 ± 0,03***	0,525 ± 0,06	0,596 ± 0,10
	0,575 ± 0,01	0,550 ± 0,03***	0,593 ± 0,03	0,499 ± 0,04*	
Примечания: При сравнении с контрольными показателями : * – (p ≤ 0,05); ** – (p ≤ 0,01); *** – (p ≤ 0,001). декомпенсированное ВГД					

УБМ-показатели толщины склерального лоскута у пациентов с компенсированным ВГД (2-я группа) достоверно не отличались от показателя пациентов контрольной группы; при этом у пациентов 3-й группы с декомпенсированным ВГД, независимо от применяемых препаратов, она была меньшей, чем в остальных группах (см. рисунок 26).

Высота интрасклеральной полости у пациентов с компенсированным и декомпенсированным ВГД была меньше, чем в контрольной группе, за исключением пациентов 1-й группы, получающих комбинированную терапию β-блокаторами с ингибиторами карбоангидразы: у них данный показатель был в 2

раза выше, хотя и не достигал значения контрольной группы.

Согласно классификации А. Г. Щуко и соавт. (13), у пациентов подгрупп с декомпенсированным ВГД, получающих монотерапию, высота интрасклеральной полости оценивалась в 1 балл, что отражало недостаточный уровень эффективности оперативного лечения и являлось обоснованием повторного хирургического вмешательства [86]. Соответствие интрасклеральной полости 2–3 баллам классификационной шкалы определяло показания к замене или дополнению гипотензивной терапии. У пациентов с компенсированным ВГД, получающих комбинированную терапию, высота интрасклеральной полости соответствовала 4–5 баллам.

Анализ показателей высоты фильтрационной подушки с помощью УБМ продемонстрировал наиболее высокую информативность этого параметра для оценки функционирования искусственно созданных путей оттока ВГЖ при рефрактерном течении глаукомы. У пациентов контрольной группы высота фильтрационной подушки составила $(1,58 \pm 0,03)$ мм; у пациентов 2-й группы с компенсированным ВГД среднее значение составило $(1,10 \pm 0,11)$ мм при монотерапии аналогами простагландинов ($p \leq 0,05$); $(0,90 \pm 0,06)$ мм при лечении β -блокаторами ($p \leq 0,01$); $(1,60 \pm 0,005)$ мм и $(1,40 \pm 0,07)$ мм при лечении сочетанием аналогов простагландинов и β -блокаторов, а также сочетанием β -блокаторов и ингибиторов карбоангидразы соответственно. Аналогичные показатели пациентов 3-й группы составили $(0,40 \pm 0,11)$; $(0,50 \pm 0,06)$; $(0,60 \pm 0,02)$ и $(0,67 \pm 0,09)$ мм соответственно, что достоверно ($p \leq 0,001$) меньше по сравнению с контрольной группой.

С учетом классификации А. Г. Щуко и соавт. (2013), при использовании комбинированной терапии у пациентов 2-й группы высота фильтрационной подушки достигала среднего значения контрольной группы; она оценивалась в 5 баллов, значимо превосходя соответствующий показатель каждой из подгрупп 3-й группы [86]. При этом монотерапия демонстрировала невысокие показатели лечения в обеих группах (1–2 балла): высота фильтрационной подушки у пациентов 2-й группы, по сравнению с показателем контрольной группы, была

меньшей при применении аналогов простагландинов в 1,4 раза, при применении β -блокаторов – в 1,75 раза. В 3-й группе высота фильтрационной подушки была снижена по сравнению с контрольной группой в несколько раз, что свидетельствовало о несостоятельности путей оттока ВГЖ и неэффективности как моно-, так и сочетанной консервативной терапии.

Таким образом, у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, использующих в послеоперационном периоде местные гипотензивные препараты различных групп и их сочетания, с помощью УБМ исследованы изменения структур переднего отрезка глаза. Среди изученных параметров наибольшей информативностью обладает показатель высоты фильтрационной подушки, непосредственно отражающий функциональное состояние путей оттока ВГЖ.

УБМ-параметр толщины роговицы подвержен значительным колебаниям, отражающим, в первую очередь, конституциональные особенности глаз пациентов, и не может служить показателем как внутриглазной гипертензии, так и эффективности местной моно- и комбинированной гипотензивной терапии.

Показатели толщины конъюнктивального и склерального лоскутов у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ могут служить лишь косвенными маркерами повышенного ВГД; при этом толщина конъюнктивы в зоне оперативного вмешательства была редуцирована. Это прямо коррелирует с уплотнением соединительной ткани (наблюдаемым в лоскутах) и отсутствием в ней диффузии ВГЖ, т.е. снижением высоты фильтрационной подушки.

В целом, в послеоперационном периоде у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ в зоне антиглаукомного оперативного вмешательства УБМ-параметр высоты фильтрационной подушки не имел достоверных отличий от контрольной группы пациентов при использовании комбинированной терапии - сочетания β -блокаторов с аналогами простагландинов или ингибиторов карбоангидразы.

В качестве примера приведем клиническое наблюдение рефрактерного течения ПОУГ с применением ингибиторов карбоангидразы.

Пациент 3. 76 лет. Жалобы на снижение зрения обоих глаз.

Анамнез заболевания: Страдает глаукомой 3 года. В 2012 г. – факоэмульсификация с имплантацией интраокулярной линзы. В феврале 2013 г. – глубокая склерэктомия с ксенодренированием левого глаза, через 2 мес повысилось ВГД до 27 мм рт.ст. Назначен 1 %-й бринзоламид 3 раза в день, ВГД снизилось до толерантного. Через 9 мес повторная глубокая склерэктомия.

Сопутствующая патология: ИБС. Диффузный кардиосклероз. Постоянная форма фибрилляции предсердий, норма вариант. Артериальная гипертензия 3 ст, риск 4.

Острота зрения ОД – 0,4 нк; OS – 0,2 нк. Тонометрия по Маклакову ОД – 18 мм рт. ст; OS – 28 мм рт. ст. Объективно: ОИ: положение глаза в орбите правильное, параорбитальная область б/о; веки б/о.

ОД – Конъюнктив бледно-розовая, отделяемого нет. Роговица прозрачная. Передняя камера 3 мм, зрачок круглый, в центре, положение ИОЛ центральное, в капсульном мешке. Глазное дно: ДЗН бледно-розовый, с сероватым оттенком, границы четкие, э/д – 0,7. Сосуды умеренно сужены, соотношение $a : v = 1:2$. Макула и видимая периферия без очаговой патологии.

OS – Конъюнктив бледно-розовая, отделяемого нет. Филترационная подушка плоская. Роговица прозрачная. Передняя камера 3 мм, зрачок круглый, в центре, в хрусталике очаговое помутнение. Глазное дно: ДЗН серый, границы четкие, э/д – 0,9-1,0. Сосуды умеренно сужены, соотношение $a : v = 1:2$. Макула и видимая периферия без очаговой патологии.

Клинический диагноз: Первичная открытоугольная глаукома III В (м+о), псевдоэкзофолиативный синдром, артифакция левого глаза. Первичная открытоугольная глаукома IA (м), неполная осложненная катаракта правого глаза.

УБМ зоны оперативного вмешательства левого глаза: УПК – открыт; Толщина конъюнктивального лоскута – 0,24 мм; толщина склерального лоскута – 0,61 мм; глубина передней камеры – 4,21 (искусственный хрусталик); глубина задней камеры – 0,54 x 3,21; высота филтрационной подушки – не определяется; интрасклеральная полость – не дифференцируется; толщина радужки – 0,54 мм; толщина роговицы – 610 мкм.

При электронно-микроскопическом исследовании склерального лоскута выявлена плотная фиброзная ткань, представленная толстыми параллельными коллагеновыми фибриллами, а также биосинтетически активными матрикс-продуцирующими клеточными элементами.

3.4. Резюме

Ультраструктурная организация эндотелиальных клеток коллекторных канальцев и водяных вен в склеральных лоскутах впервые и повторно оперированных пациентов отражала баланс цитодеструкции и клеточной регенерации и не зависела от применяемой до операции схемы терапии.

Биосинтетически активные матрикс-продуцирующие клетки склеры у впервые оперированных пациентов локализовались преимущественно вблизи элементов дренажной системы глаза. Волокна и основное вещество соединительной ткани при функционировании фильтрационных подушек характеризовались низкой электронной плотностью. При рефрактерном течении ПОУГ плоские фильтрационные подушки с редуцированной интрасклеральной полостью сочетались с более выраженной пролиферативной реакцией фибробластов, формирующих перивенулярные клеточные инфильтраты и гранулемы вдоль краев резекции.

Клинико-морфологические маркеры повышенного риска рефрактерности глаукомы при глубокой склерэктомии включают в себя формирование эхоплотных стенок интрасклеральной полости или ее редукцию, что сочетается с увеличением численной плотности матрикс-продуцирующих клеток, особенно при отсутствии медикаментозной терапии или применении аналогов простагландинов. При этом клинико-морфологические маркеры благоприятного прогноза основаны на формировании гипоехогенных высоких фильтрационных подушек, а также сниженной плотностью волокон и основного вещества соединительной ткани, наиболее выраженных при использовании β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы.

**ГЛАВА 4. ЭКСПРЕССИЯ CD34 И ФИБРОНЕКТИНА
В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СКЛЕРЫ
ПО ДАННЫМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
ПАРАФИНОВЫХ СРЕЗОВ**

Проведен структурный анализ фиброзирования фильтрационных подушек у пациентов с рефрактерной ПОУГ, применяющих для снижения уровня ВГД местные гипотензивные препараты различных групп, по данным визуализации с помощью УБМ и на основе изучения экспрессии молекулярно-биологических маркеров в склеральных лоскутах.

Пациенты разделены на 3 группы сопоставимого возраста в зависимости от количества операций и местной гипотензивной терапии. В 1-й группе (10 клинических наблюдений) в силу различных причин пациенты не применяли до оперативного лечения местные гипотензивные средства. Пациенты 2-й группы (64 случая) для снижения ВГД до проведения первой операции использовали 7 различных комбинаций антиглаукомных препаратов: в качестве монотерапии 11 человек применяли аналоги простагландинов, 6 – β -блокаторы, 6 – ингибиторы карбоангидразы; в качестве комбинированной терапии по 14 пациентов использовали сочетание β -блокаторов с аналогами простагландинов или с ингибиторами карбоангидразы, 5 человек – аналоги простагландинов с ингибиторами карбоангидразы, и остальные 8 пациентов применяли трехкомпонентную терапию – аналоги простагландинов, β -блокаторы и ингибиторы карбоангидразы одновременно.

В 3-ю группу вошли 38 пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, которым, в отличие от первых двух групп, выполнены две и более антиглаукомные операции; с торпидным декомпенсированным ВГД ($31,72 \pm 0,69$) мм рт. ст. несмотря на применение местной медикаментозной терапии указанными для 2-й группы сочетаниями препаратов (соответственно по 5, 2, 5, 7, 7, 5 и 7 пациентов).

4.1. Особенности экспрессии CD34 эндотелиальными клетками коллекторных канальцев у впервые оперированных пациентов с глаукомой

У впервые оперированных пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД, независимо от стадии глаукомы и возраста, элементы трабекулярной сети содержали одиночные или многочисленные зерна меланина, фагоцитируемые полиморфными макрофагами. Почти в половине наблюдений ЮКТ имела компактное, плотное строение с уплощенными или дегенерирующими трабекулярными клетками и в различной степени редуцированными свободными пространствами. В другой половине наблюдений ЮКТ отечна, разволокнена, с крупными фибробластами и эндотелиоцитами, иногда с плазматическим пропитыванием и наличием одиночных эритроцитов.

Коллекторные канальцы, в отличие от водяных вен, с относительно узкими просветами, выстланы уплощенным эндотелием; некоторые из них содержали зерна меланина. Водяные вены с широкими просветами, «сочным», иногда пролиферирующим эндотелием и периваскулярной клеточной инфильтрацией, в составе которой доминировали матрикс-продуцирующие клетки, и встречались одиночные лимфоциты.

Следует отметить, что рутинное светооптическое исследование парафиновых срезов склеральных лоскутов не выявило каких-либо закономерностей в структурной организации соединительной ткани в зависимости от применяемой до антиглаукомной операции схемы медикаментозной моно- или комбинированной терапии.

Кластер дифференцировки CD34 – гликопротеин плазмолеммы с одиночным трансмембранным фрагментом, экспрессируется при индукции ангиогенеза; присутствие CD34-позитивных клеток в различных тканях связано с вовлечением клеток с низким уровнем дифференцировки. Взаимодействуя с L-селектином, CD34 участвует в развитии воспаления, способствует миграции стромальных клеток, но все его функции до конца не выяснены [163].

В склеральных лоскутах пациентов с ПОУГ экспрессия CD34 имела место в

эндотелиальных клетках и перицитах коллекторных каналов дренажной системы глаза, сочетаясь с расширением их просветов, при этом в структуре водяных вен и сосудисто-нервных пучках склеры меченые клетки выявлялись крайне редко. В наибольшем количестве CD34-позитивные эндотелиоциты выявлены в склере впервые оперированных пациентов, не применяющих препараты местной медикаментозной терапии (рисунок 27), независимо от возраста пациентов и стадии глаукомного процесса.

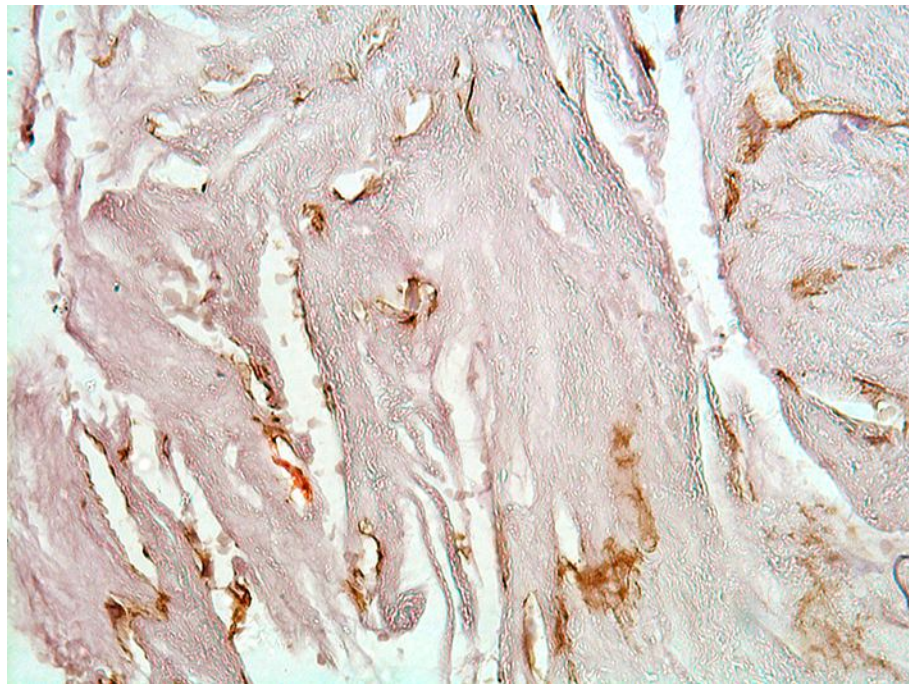


Рисунок 27 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, отсутствие местной медикаментозной терапии. CD34-позитивные эндотелиоциты элементов дренажной системы глаза. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450

В несколько меньшем количестве продукты иммуногистохимической реакции содержались в препаратах пациентов с монотерапией аналогами простагландинов (рисунки 28 и 29); в остальных случаях реакция варьировала, но в целом была меньше выраженной (рисунок 30) или крайне слабой, что балансировало на грани чувствительности метода. Важно отметить, что практически не было экспрессии CD34 при одновременном применении трех препаратов.

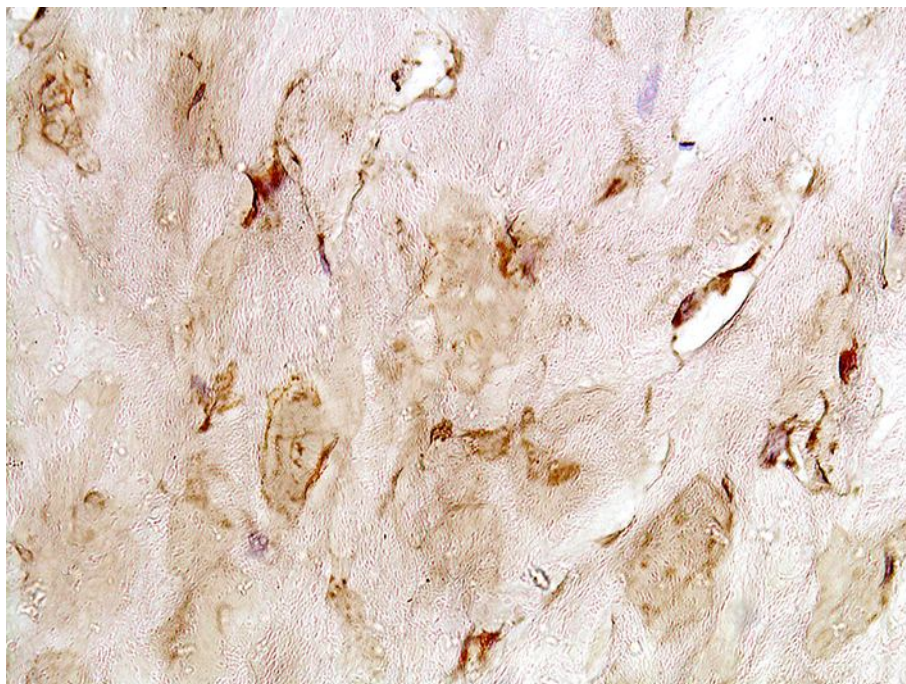


Рисунок 28 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, монотерапия аналогами простагландинов. CD34-позитивные эндотелиоциты элементов дренажной системы глаза. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450

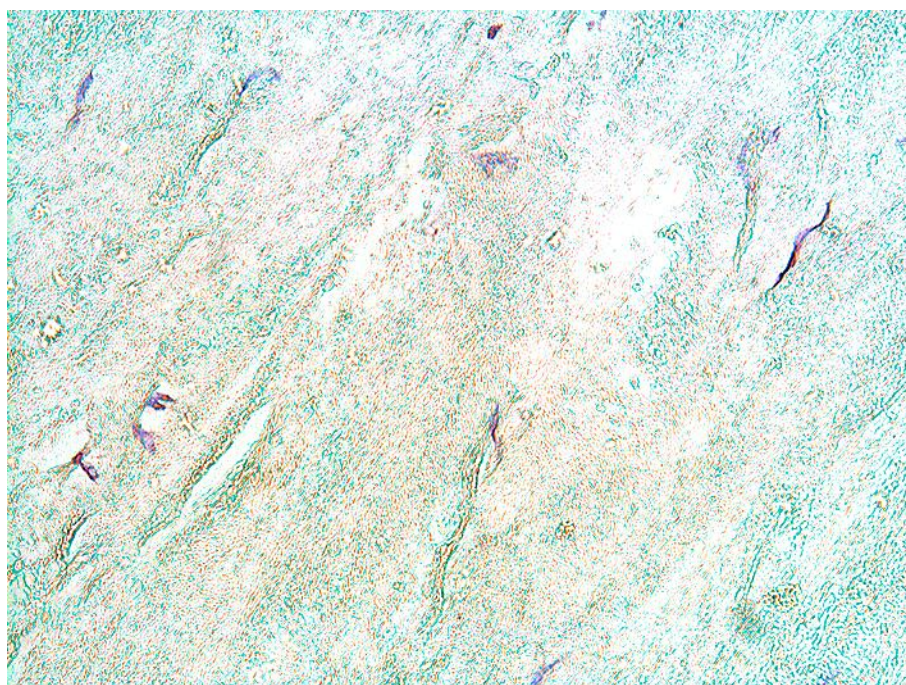


Рисунок 29 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450

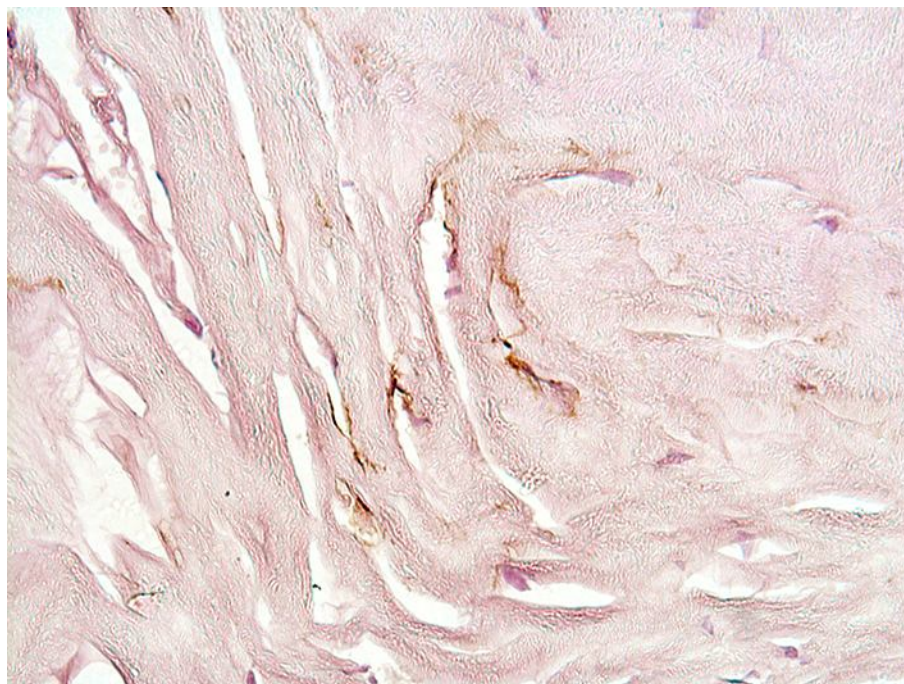


Рисунок 30 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Умеренно выраженная экспрессия CD34. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450

4.2. Характер экспрессии фибронектина во внеклеточном матриксе склеры у впервые оперированных пациентов с глаукомой

Фибронектин - молекулярно-биологический маркер экстрацеллюлярного матрикса, высокомолекулярный гликопротеин, который взаимодействует с интегринами, коллагенами, фибрином, тенасцином, TNF- α и гепарансульфат протеогликанами. Нерастворимый фибронектин – компонент экстрацеллюлярного матрикса, продуцируемый преимущественно фибробластами, играет роли в клеточной адгезии, миграции, дифференцировке, а также в заживлении ран и эмбриогенезе; его биосинтез ассоциирован с канцерогенезом и фиброгенезом – в фокусах вновь синтезируемых коллагеновых фибрилл [115]. Продукцию фибронектина индуцирует трансформирующий фактор роста β (TGF- β), уровень содержания которого у пациентов с ПОУГ повышен [79].

Экспрессия фибронектина в склеральных лоскутах пациентов с ПОУГ имела исключительно внеклеточный характер (рисунок 31), приурочена к элементам лимфодренажной системы глаза, преимущественно водяным венам и прилежащим участкам, и повышена при увеличении числа матрикс-продуцирующих клеток в образцах склеры и при преобладании в этой популяции биосинтетически активных форм – фибробластов, достигая максимума в местах их скоплений.

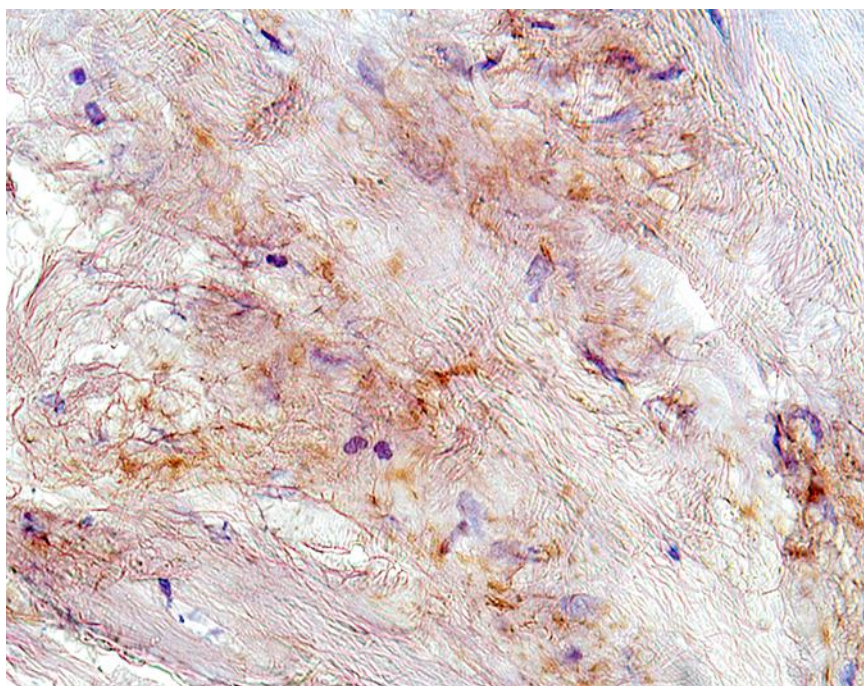


Рисунок 31 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, отсутствие местной медикаментозной терапии. Выраженная экспрессия фибронектина во внеклеточном матриксе склеры. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450

Достаточно низкая неравномерная экспрессия фибронектина отмечена у впервые оперированных пациентов с ПОУГ при применении различных групп и сочетаний местных гипотензивных препаратов (рисунки 32 и 33) . Наиболее выраженная экспрессия фибронектина была у пациентов без местного медикаментозного лечения, менее значимая – при монотерапии аналогами простагландинов (рисунок 34).

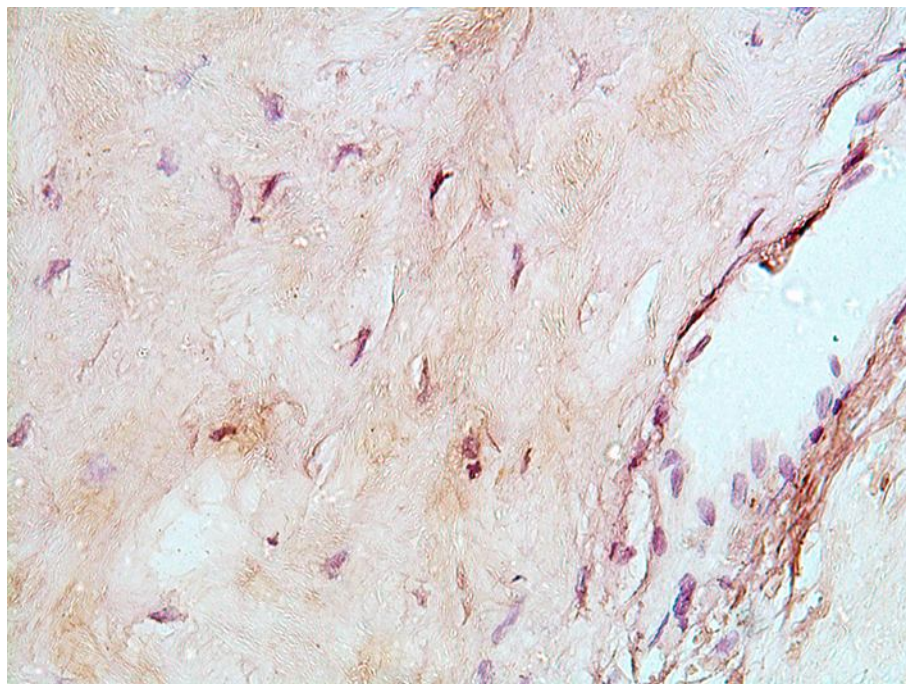


Рисунок 32 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Слабо выраженная экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; диаминобензидин и гематоксилин Майера. Ув. 450

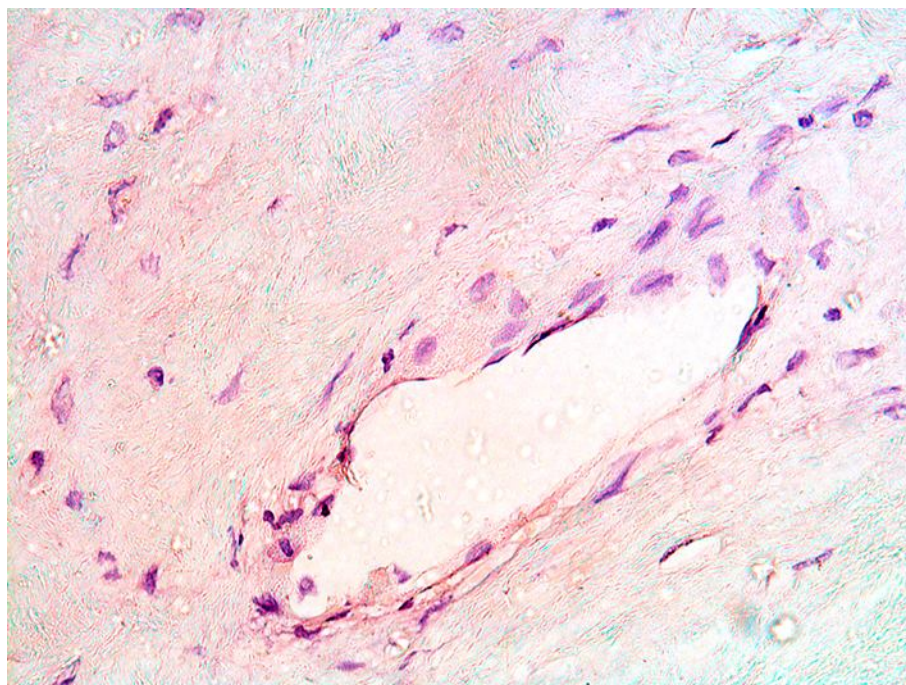


Рисунок 33 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера

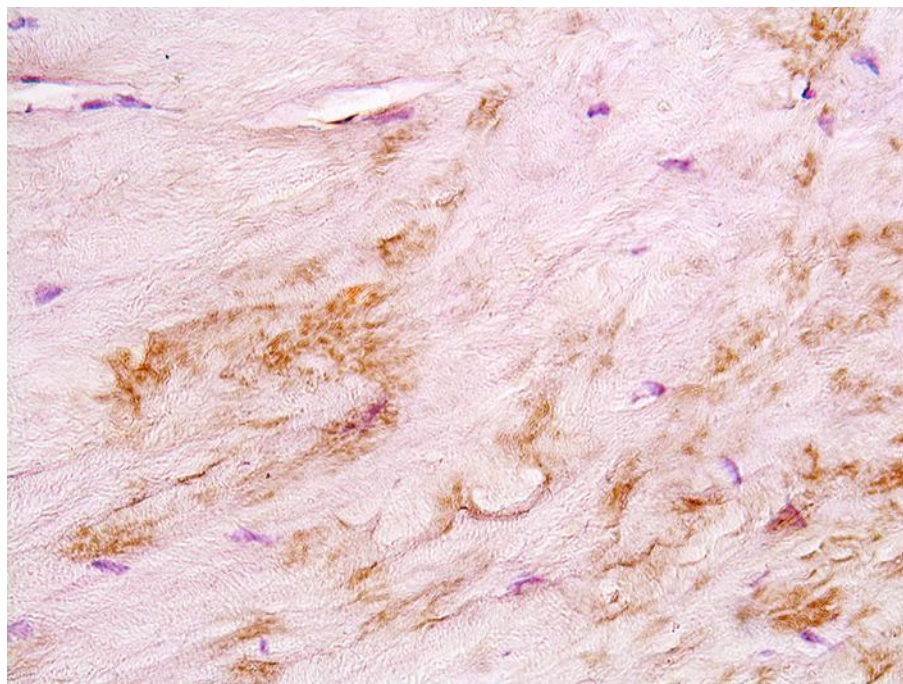


Рисунок 34 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, монотерапия аналогами простагландинов. Умеренно выраженная экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450

4.3. Особенности экспрессии CD34 эндотелиальными клетками коллекторных канальцев при рефрактерном течении глаукомы

По результатам иммуногистохимического исследования парафиновых срезов склеры проведена оценка экспрессии CD34 и продемонстрирована роль биомаркера в структурно-функциональных изменениях соединительной ткани у 38 пациентов с рефрактерной ПОУГ. Резецированные в образцы представлены склеральными лоскутами треугольной формы, содержащими в основании элементы ЮКТ, преимущественно плавно переходящей в компартмент коллекторных канальцев и водяных вен, локализующихся в плотной фиброзной ткани с варьирующим содержанием матрикс-продуцирующих клеток.

В склеральных лоскутах при рефрактерном течении ПОУГ уровень экспрессии CD34 был крайне неравномерным, и относительно большее количество меченых эндотелиоцитов было у пациентов, применяющих β -блокаторы в сочетании с ингибиторами карбоангидразы (рисунки 35, 36)

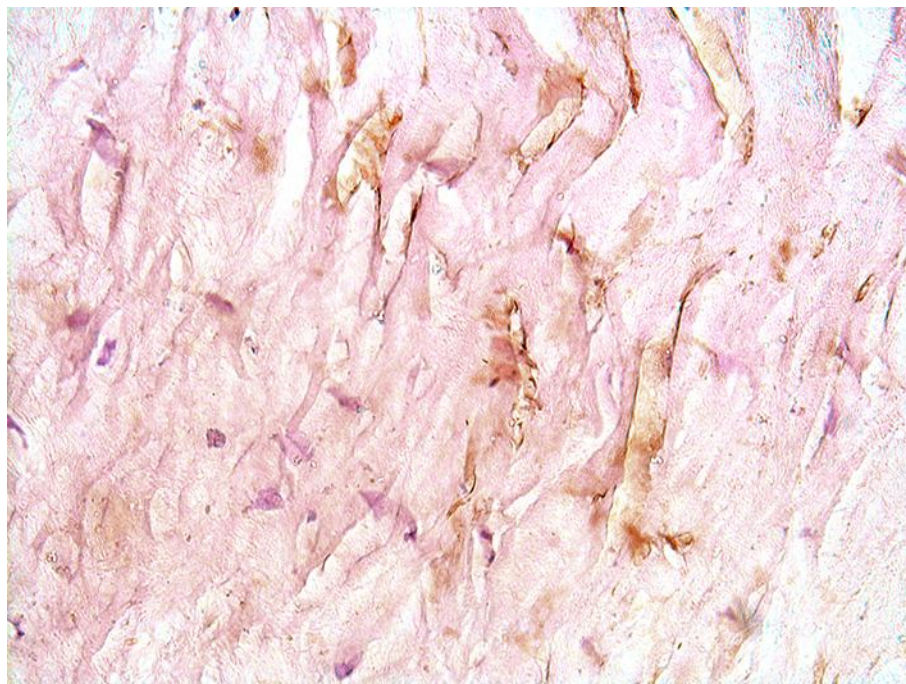


Рисунок 35 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Очаговая экспрессия CD34 элементами лимфодренажной системы склеры. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450

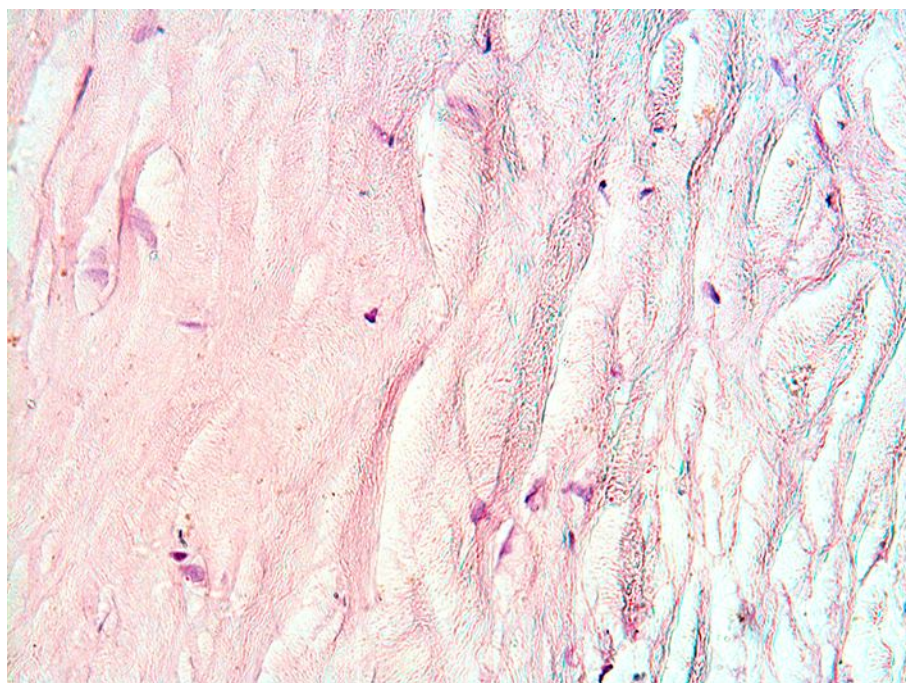


Рисунок 36 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450

При применении других препаратов местной гипотензивной терапии и их сочетаний число меченых клеток было сниженным и варьировало (рисунки 37, 38).

С учетом данных УБМ, визуализирующих рыхлую и сравнительно большую по площади фильтрационную подушку, можно предположить позитивную роль в ее функционировании экспрессирующих CD34 клеточных элементов, способствующих развитию лимфодренажных функций, обеспечивающих отток ВГЖ.

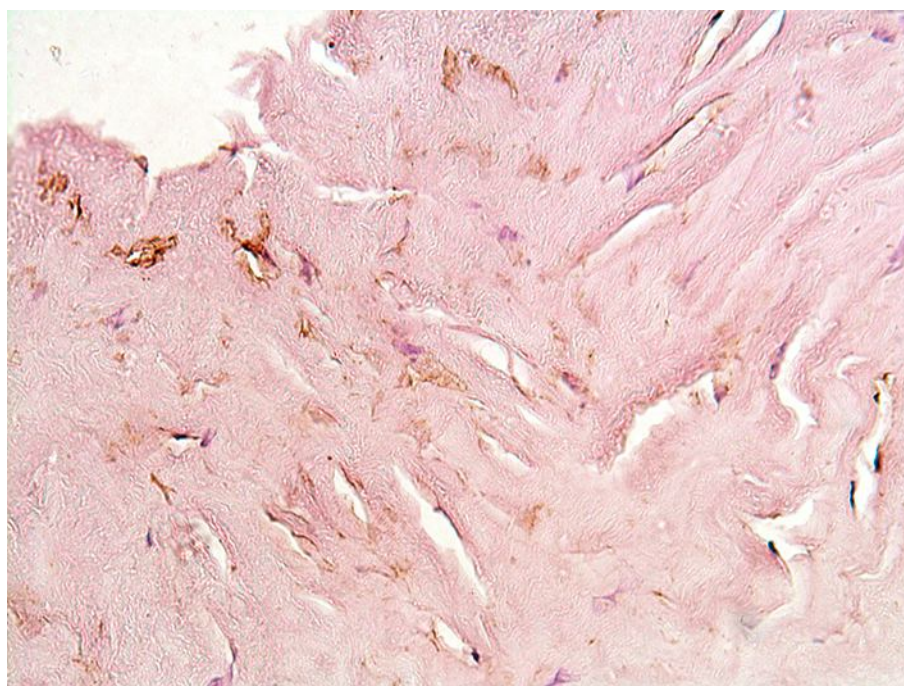


Рисунок 37 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с аналогами простагландинов. Неравномерная экспрессия CD34 эндотелиальными клетками.

Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотинный метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера.

Ув. 450

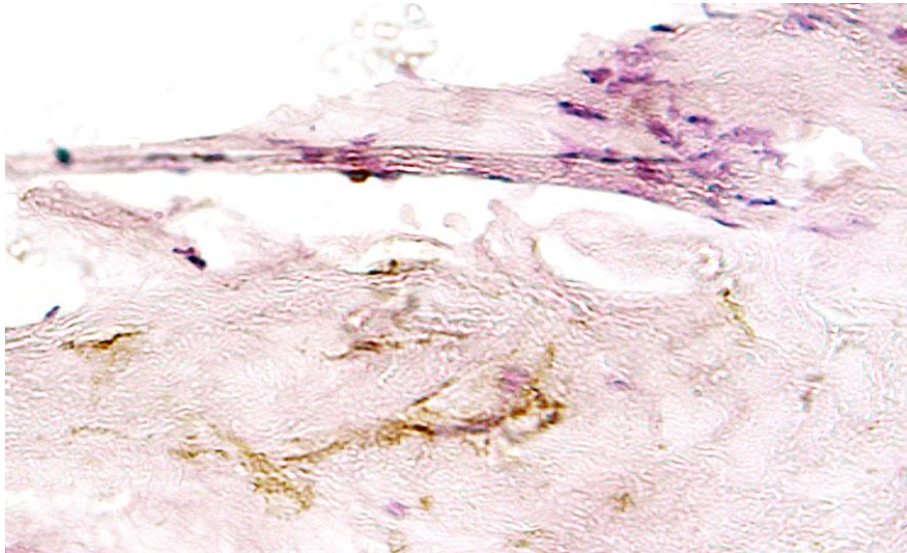


Рисунок 38 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия ингибиторами карбоангидразы. Очаговая экспрессия CD34 клеточными элементами юкстаканаликулярной ткани.

Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера.

Ув. 650

4.4. Характер экспрессии фибронектина во внеклеточном матриксе склеры при рефрактерном течении глаукомы

Фибронектин - молекулярно-биологический маркер экстрацеллюлярного матрикса, отражающий провоспалительный потенциал соединительной ткани. Как и у впервые оперированных пациентов, экспрессия фибронектина имела внеклеточный характер, иногда была приурочена к элементам лимфодренажной системы, в том числе водяным венам, и повышена при увеличении числа матрикс-продуцирующих клеток в образцах склеры и при преобладании в этой популяции биосинтетически активных форм – фибробластов. При рефрактерном течении ПОУГ экспрессия фибронектина более значительна в склере пациентов при монотерапии аналогами простагландинов или β -блокаторами (рисунки 39, 40), что свидетельствует о повышенном провоспалительном потенциале соединительной ткани, лежащем в основе ускоренного рубцевания фильтрационных подушек.

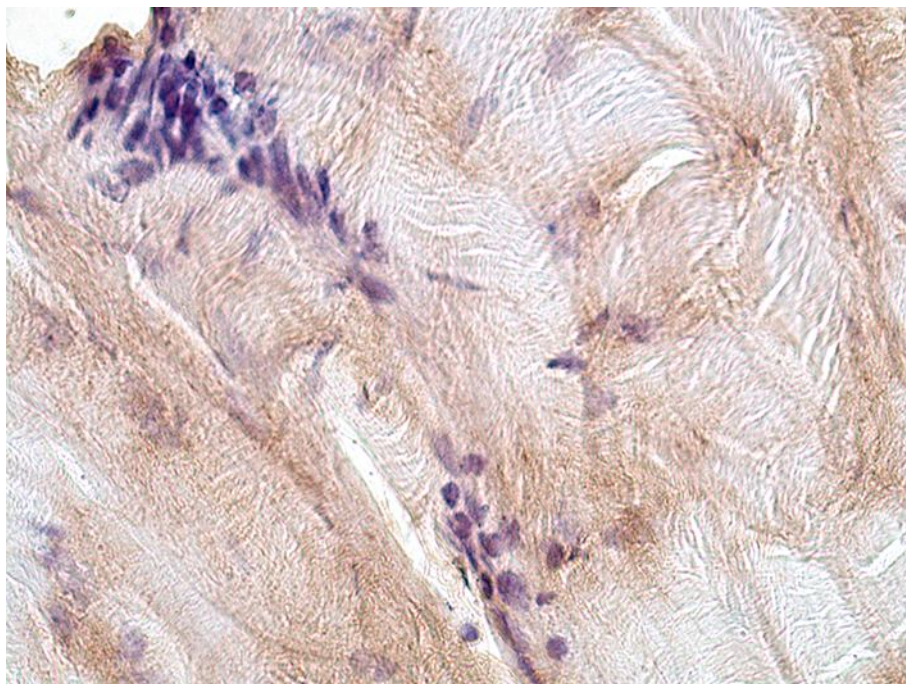


Рисунок 39 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия аналогами простагландинов. Выраженная экспрессия фибронектина, очаговые скопления пролиферирующих фибробластов.

Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера.

Ув. 450

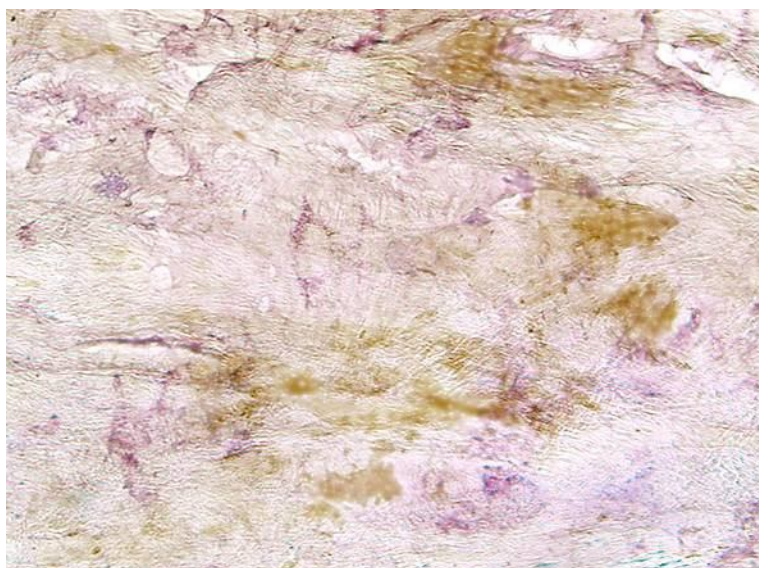


Рисунок 40 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами. Очаговая экспрессия фибронектина на фоне фибробластов с длинными отростками.

Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера.

Ув. 450

Наименее выраженная экспрессия фибронектина имела место при применении β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы или с аналогами простагландинов (схемы 4, 5) (рисунки 41, 42), и почти отрицательные результаты получены в условиях трехкомпонентной терапии.

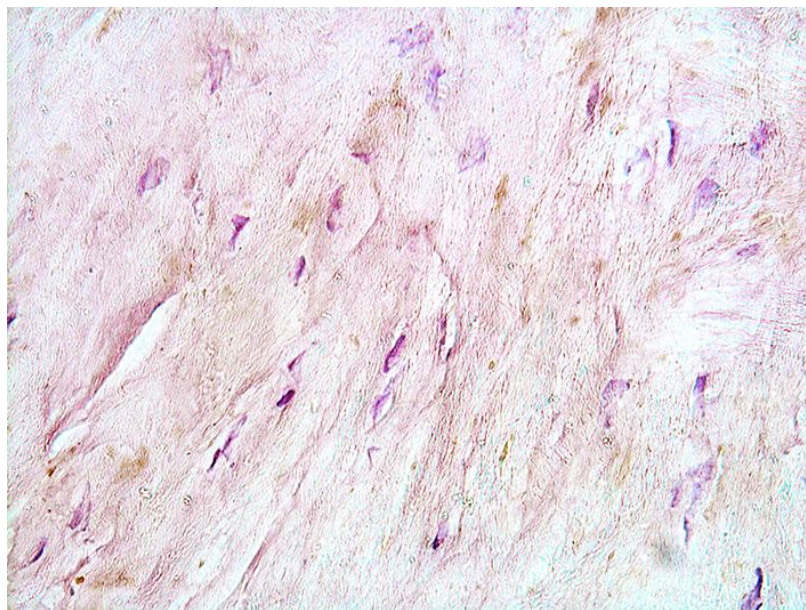


Рисунок 41 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Слабая экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска DAB и гематоксилином Майера. Ув. 450

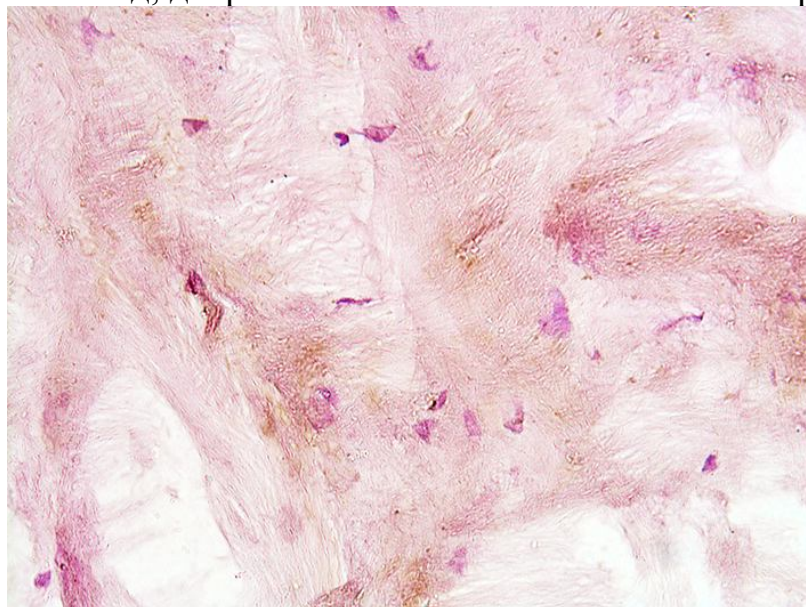


Рисунок 42 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, трехкомпонентная терапия. Очаговая экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска DAB и гематоксилином Майера. Ув. 450

4.5. Результаты оценки содержания фибронектина по данным автоматического анализа изображения

По данным системы автоматического анализа изображения, проведенного с целью объективизации уровня экспрессии фибронектина во внеклеточном матриксе склеральных лоскутов пациентов, полученные результаты не имеют статистической достоверности различий, и отражают тенденции по содержанию маркера провоспалительного потенциала соединительной ткани.

Экспрессия фибронектина в склеральных лоскутах пациентов с ПОУГ имеет внеклеточный характер. Наиболее выраженная экспрессия фибронектина отмечена у впервые оперированных пациентов без медикаментозного лечения, менее значимая – при монотерапии аналогами простагландинов. У пациентов с рефрактерным течением ПОУГ экспрессия фибронектина более значительна в образцах склеры пациентов при монотерапии (аналогами простагландинов или β -блокаторы), и наименьшая – при применении β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы или с аналогами простагландинов (схемы 4, 5).

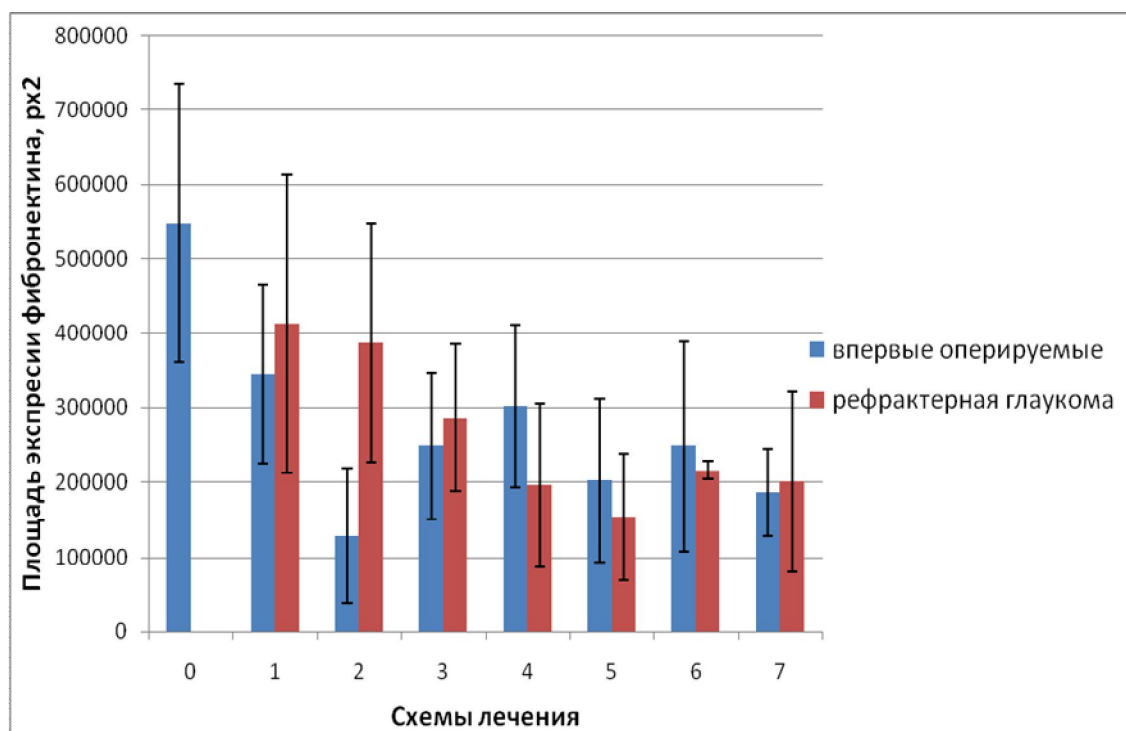


Рисунок 43 – Экспрессия фибронектина в склеральных лоскутах пациентов по данным автоматического анализа изображения. Отсутствие достоверных различий ($p > 0,5$)

4.6. Резюме

В склеральных лоскутах впервые оперированных пациентов наибольший уровень экспрессии CD34 и фибронектина имеет место при отсутствии до операции медикаментозного лечения, несколько меньший – при монотерапии аналогами простагландинов; при применении других схем лечения экспрессия снижена или отсутствует.

При рефрактерном течении ПОУГ относительно большее количество CD34-позитивных эндотелиальных клеток отмечено при применении β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы, что прямо коррелировало с визуализируемыми с УБМ разлитыми фильтрационными подушками. Экспрессия фибронектина более значительна в образцах склеры пациентов при монотерапии (аналоги простагландинов или β -блокаторы), и наименьшая – при сочетании β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы или с аналогами простагландинов, и отрицательные результаты получены при применении трехкомпонентной терапии.

Следует отметить, что в большинстве случаев нами не выявлена синхронность в экспрессии CD34 и фибронектина, продукты иммуногистохимической реакции имели разную локализацию, что может отчасти отражать определенную последовательность в реактивности соединительной ткани в фиброгенезе и/или характеризовать свойства соединительной ткани конкретного пациента определенным образом реагировать на повышенное ВГД. Таким образом, дальнейшее изучение молекулярно-биологических маркеров соединительной ткани склеры важно для понимания морфогенеза ПОУГ.

ГЛАВА 5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕСТНЫХ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ

Проведен ретроспективный статистический анализ эффективности 8 схем местной медикаментозной терапии относительно стадии ПОУГ и уровне ВГД, изучено 650 историй болезни пациентов с ПОУГ ($67,9 \pm 1,3$) лет 404 мужчин и 246 женщин, 1197 глаз, госпитализированных в офтальмологическое отделение Государственной Новосибирской областной клинической больницы в период 2011–2014 г.

Для сравнения вклада группы препаратов в изменение ВГД в зависимости от стадии глаукомы использован мультифакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Попарное сравнение с регулируемым множественным сравнением проведено с помощью Tukey-теста. Программное обеспечение – пакет анализа SPSS Statistics 17.0, Statistica 6.0.

Общее количество – 1197 глаз 650 пациентов – разделены на 4 группы по принципу компенсации ВГД, а также повторности операции: 527 глаз с декомпенсированным ВГД перед первичной антиглаукомной операцией; 467 – неоперированные с компенсированным ВГД в условиях местной терапии; 81 – добавлены к предыдущей группе – оперированные с компенсированным ВГД и 122 глаза – рефрактерная ПОУГ. Цель анализа – оценить эффективность 8 схем медикаментозной терапии. Группы пациентов были репрезентативны по возрасту, и в каждой проводилось попарное сравнение с учетом показателей пациентов без лечения (таблица 3).

Распределение (процент встречаемости) различных стадий ПОУГ в зависимости от предоперационной медикаментозной гипотензивной терапии представлено в таблицах 4 (анализ по стадиям) и 5 (анализ по схемам местной гипотензивной терапии) позволило убедиться в репрезентативности нашей выборки и подтвердить повышение ВГД с увеличением стадии ПОУГ.

Таблица 3 – Распределение пациентов по возрасту ($M \pm m$) с учетом компенсации ВГД и количества антиглаукомных операций

Группы пациентов (схема терапии)	Впервые оперированные		Повторно оперированные	
	комп ВГД	декомп ВГД	комп ВГД	декомп ВГД
1	$73,5 \pm 0,3$	$73,0 \pm 0,3$	$74,0 \pm 1,6$	$67,0 \pm 1,8$
2	$63,5 \pm 0,2$	$69,5 \pm 0,7$	$73,0 \pm 0,5$	$69,5 \pm 2,3$
3	$71,5 \pm 1,7$	$69,0 \pm 0,8$	$76,5 \pm 0,3$	$67,0 \pm 3,1$
4	$69,0 \pm 0,5$	$72,5 \pm 0,1$	$73,0 \pm 0,0$	$67,5 \pm 2,3$
5	$70,5 \pm 0,8$	$67,5 \pm 1,1$	$65,5 \pm 2,2$	$74,0 \pm 0,2$
6	$62,5 \pm 1,8$	$57,5 \pm 3,0$	$66,0 \pm 3,3$	$57,5 \pm 6,0$
7	$71,5 \pm 0,2$	$70,5 \pm 0,5$	$68,0 \pm 0,7$	$69,0 \pm 1,4$
8	$68,5 \pm 1,9$	$68,5 \pm 1,8$	$74,5 \pm 0,3$	$69,0 \pm 2,9$
0 (без лечения)	$78,5 \pm 0,9$	$74,0 \pm 1,7$	$59,0 \pm 4,5$	$74,5 \pm 0,1$

Таблица 4 – Характеристика стадий ПОУГ и предоперационной медикаментозной гипотензивной терапии

Группы /Схемы	Стадии ПОУГ абс. (%)			
	начальная	развитая	далекозашедшая	терминальная
1 (164 глаза)	54 (33 %)	57 (35 %)	40 (24 %)	13 (8 %)
2 (178 глаза)	41 (23 %)	64 (36 %)	39 (22 %)	34 (19 %)
3 (56 глаза)	10 (18 %)	24 (43 %)	14 (25 %)	8 (14 %)
4 (194 глаза)	44 (22 %)	85 (44 %)	52 (27 %)	13 (7 %)
5 (325 глаза)	63 (19 %)	119 (37 %)	97 (30 %)	46 (14 %)
6 (90 глаз)	19 (21 %)	37 (41 %)	22 (25 %)	12 (13 %)
7 (40 глаз)	8 (20 %)	15 (37,5 %)	11 (27,5 %)	6 (15 %)
8 (45 глаза)	13 (29 %)	16 (36 %)	13 (29 %)	3 (6 %)
0 (105 глаза)	22 (21 %)	37 (35 %)	28 (27 %)	18 (17 %)

Таблица 5 – Характеристика схем терапии в зависимости от стадий ПОУГ

Группы / Схемы	Стадии ПОУГ абс. (%)			
	начальная	развитая	далекозашедшая	терминальная
1	54 (20 %)	57 (12,5 %)	40 (13 %)	13 (8,5 %)
2	41 (15 %)	64 (14 %)	39 (12 %)	34 (22 %)
3	10 (3 %)	24 (6 %)	14 (4 %)	8 (5 %)
4	44 (16 %)	85 (19 %)	52 (16,5 %)	13 (8,5 %)
5	63 (23 %)	119 (26 %)	97 (31 %)	46 (30 %)
6	19 (7 %)	37 (8 %)	22 (7 %)	12 (8 %)
7	8 (3 %)	15 (3 %)	11 (3,5 %)	6 (4 %)
8	13 (5 %)	16 (3,5 %)	13 (4 %)	3 (2 %)
0	22 (8 %)	37 (8,0 %)	28 (9 %)	18 (12 %)
Всего	274	454	316	153

Анализ 527 глаз с декомпенсированным ВГД перед первичной антиглаукомной операцией начат с изучения распределения значений ВГД в зависимости от стадии глаукомы (рисунок 44). Как известно, с увеличением стадии ПОУГ возрастает значение среднего ВГД, различия статистически достоверны ($p = 0,000008$).

Распределение значений ВГД в зависимости от примененной консервативной терапии: 1–8 – стандартные схемы лечения, 0 – консервативное лечение не проводилось (у 21 пациента). Вне зависимости от стадии глаукомы, выявлено, что препараты групп 2, 4 и 5 обладают значительно более выраженным гипотензивным эффектом, данные статистически достоверны ($p = 0,0011$), не обеспечивая толерантное ВГД (рисунок 45).

Далее изучали гипотензивный эффект схем консервативной терапии на различных стадиях глаукомы. Попарное сравнение сочетанного воздействия двух факторов – стадии и схемы лечения – на уровень ВГД перед оперативным вмешательством позволило выявить следующие закономерности.

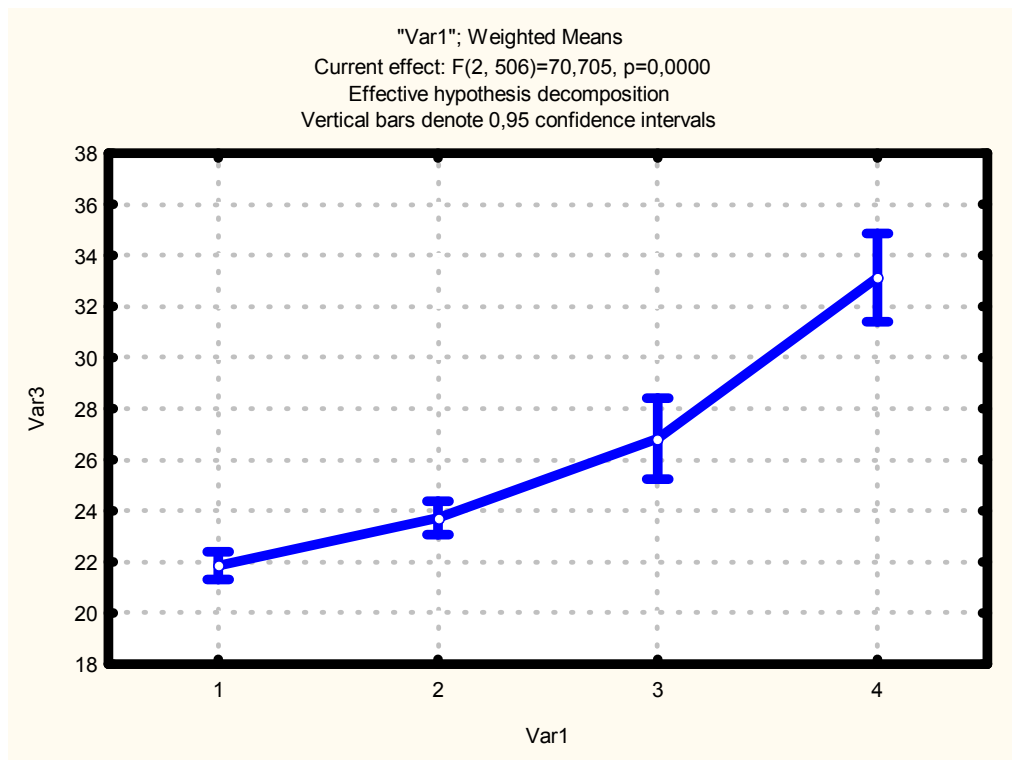


Рисунок – 44. Распределение уровня ВГД в зависимости от стадии глаукомы перед первичной операцией, 95 % доверительный интервал

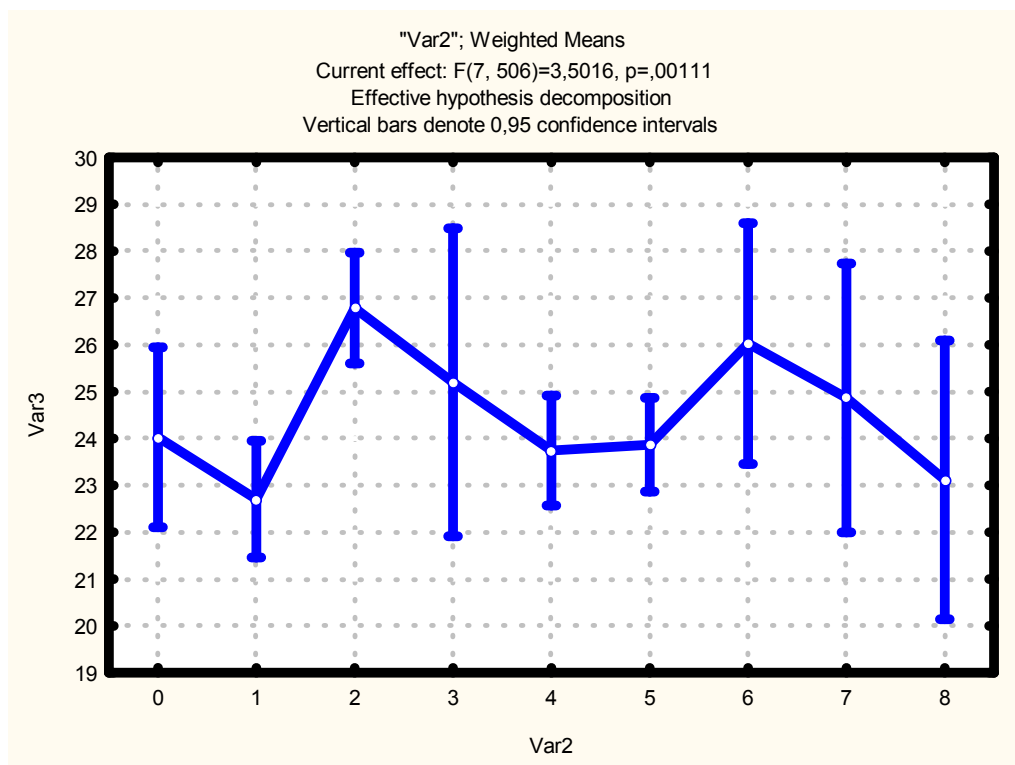


Рисунок 45 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы местной медикаментозной терапии перед первой антиглаукомной операцией, декомпенсированное ВГД, 95 % доверительный интервал

У пациентов с I и II стадиями ни одна из схем местной терапии не привела к статистически более частому достижению ВГД до уровня 26 мм рт. ст. и ниже ($p > 0,5$).

На III стадии выявлен статистически значимый гипотензивный эффект препаратов схемы 2 (β -блокаторы), при применении которых ВГД снижалось до уровня 20–24 мм рт. ст. ($p < 0,0001$). Наибольший гипотензивный эффект консервативного лечения показан в IV стадии глаукомы, достоверно более низкое ВГД (24 мм и ниже) наблюдалось у пациентов, применявших препараты схем 2, 5 и 6 ($p < 0,0001$).

Необходимо отметить, что при лечении по схеме 3 (ингибиторы карбоангидразы) наблюдалось снижение ВГД до уровня 21 мм рт. ст. и ниже, данные статистически достоверны, однако не столь значимы – ($p < 0,01$). Распределение средних уровней ВГД в зависимости от стадии глаукомы и схемы лечения представлено на рисунке 46.

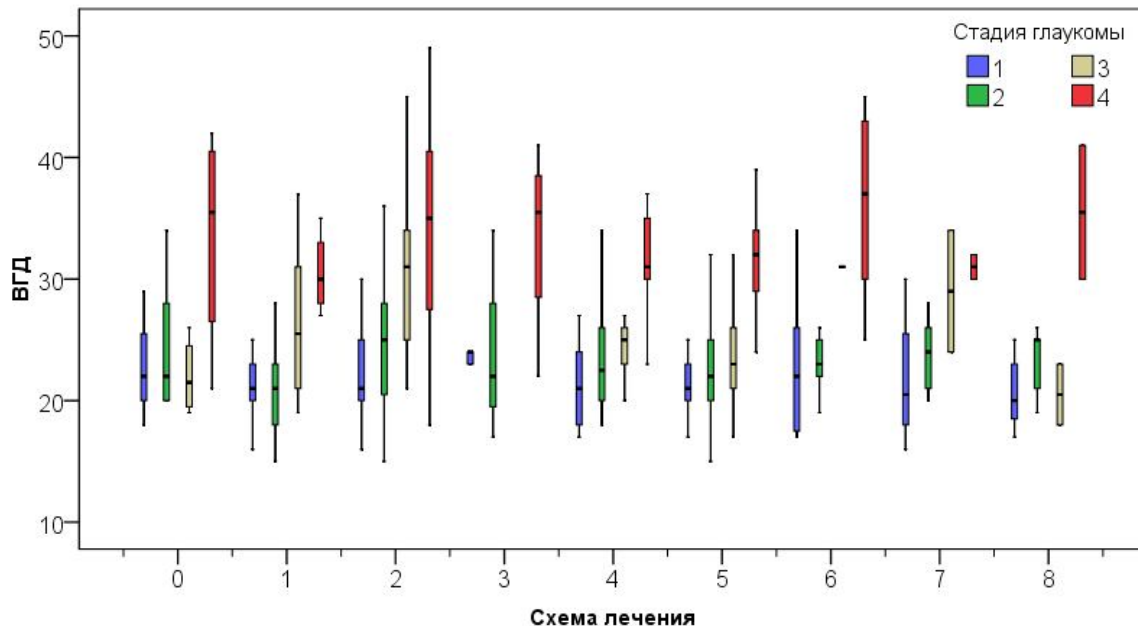


Рисунок 46 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии ПОУГ и схемы местного гипотензивного лечения при декомпенсированном ВГД перед первой операцией (n = 527), 95 % доверительный интервал. В 3-й схеме лечения пациенты с III стадией отсутствовали, и в 6-й схеме было лишь одно клиническое наблюдение

Анализ 467 глаз – неоперированные с компенсированным ВГД в условиях местной терапии. Изучение эффективности консервативной терапии в группе неоперированных пациентов с компенсированным ВГД (из них 35 глаз – без местной терапии) показало, что с увеличением стадии ПОУГ возрастает значение среднего ВГД, различия статистически достоверны ($p = 0,000008$). Распределение значений ВГД в зависимости от стадии глаукомы представлено на рисунке 47.

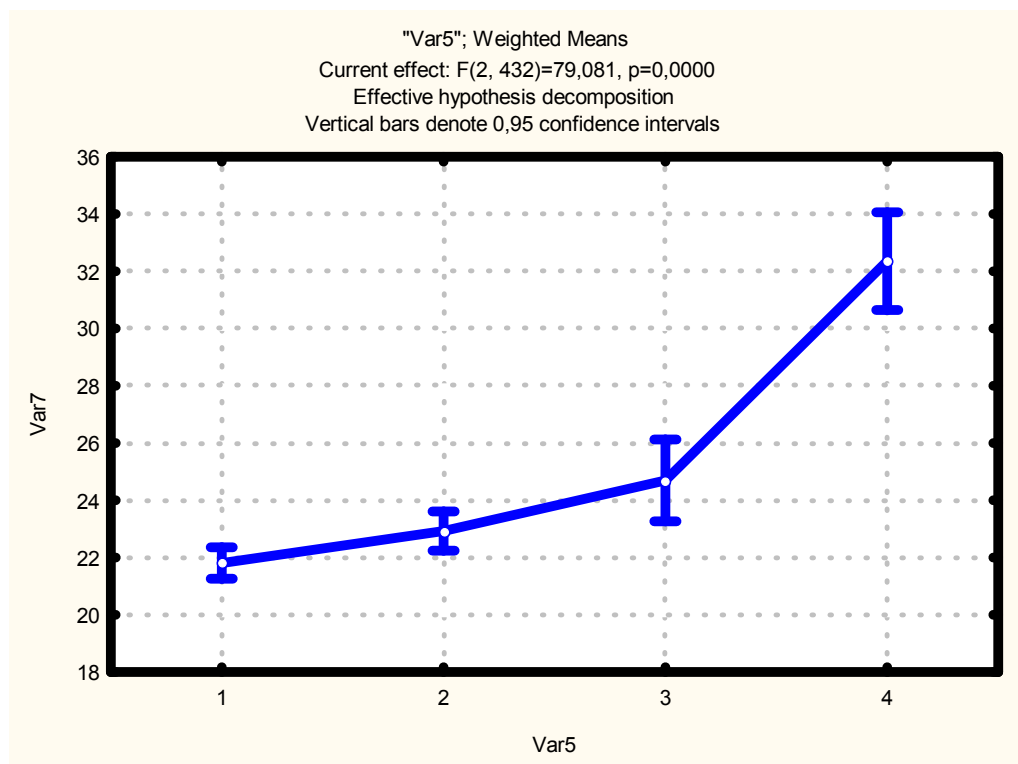


Рисунок 47 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии ПОУГ - неоперированные глаза с компенсированным ВГД, 95 % доверительный интервал

Не обнаружено значимого влияния конкретной схемы лечения на поддержание ВГД в пределах целевых значений. Каждая из групп препаратов обладает сходным гипотензивным эффектом при рассмотрении без учета стадии глаукомы ($p = 0,44583$). Распределение средних уровней ВГД по подгруппам представлено на рисунке 48.

Изучение гипотензивного эффекта схем консервативной терапии на различных стадиях глаукомы в данной группе выявило следующие закономерности.

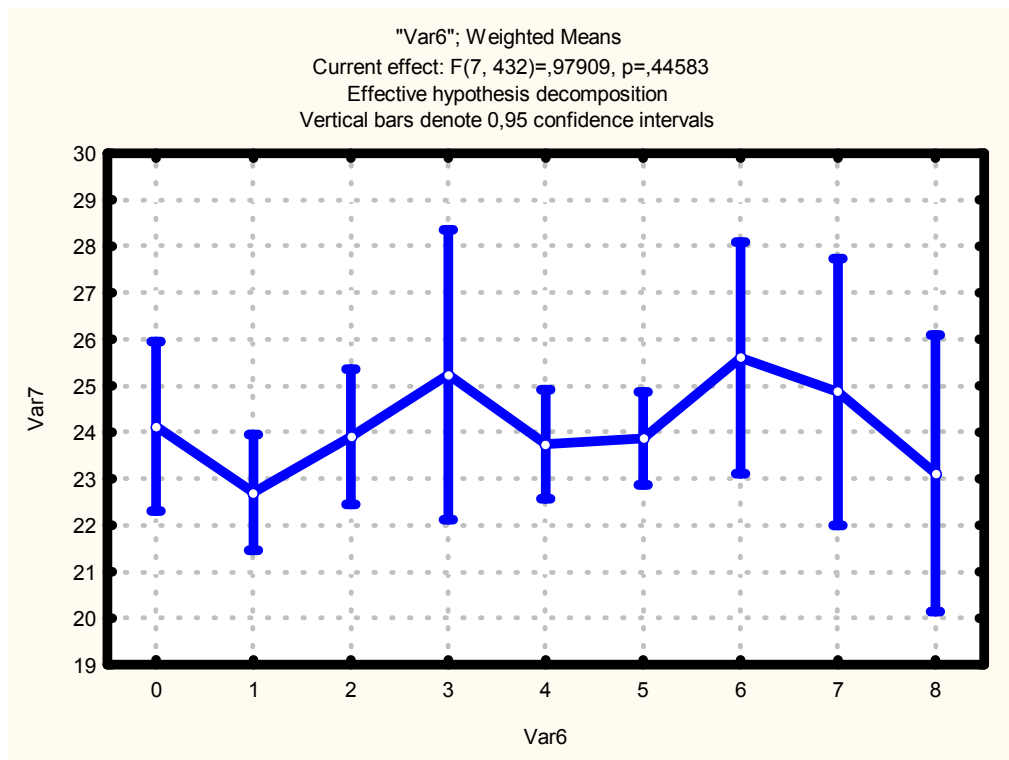


Рисунок 48 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы консервативной терапии неоперированных глаз пациентов с компенсированным ВГД, 95% доверительный интервал

Попарное статистическое сравнение сочетания двух факторов – стадии ПОУГ и схемы лечения – на уровень ВГД показало, что у пациентов с I, II и III стадиями ни одна из схем не привела к статистически более частому достижению ВГД на уровне 26 мм рт. ст. и ниже ($p > 0,5$). На IV стадии выявлен статистически значимый гипотензивный эффект препаратов схем 2, 5 и 6, при применении которых ВГД снижалось до уровня 20–23 мм рт. ст. ($p < 0,0001$). Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии глаукомы и схемы лечения представлено на рисунке 49.

Анализ наблюдений с компенсированным ВГД в условиях местной терапии – 467 неоперированные и 81 – оперированные. Это сделано для более глубокого анализа положительного эффекта в снижении ВГД схем местной медикаментозной терапии несмотря на то, что объединены неоперированные и оперированные глаза – с условно нормальной анатомией дренажной системы глаза и вновь созданными путями оттока ВГЖ.

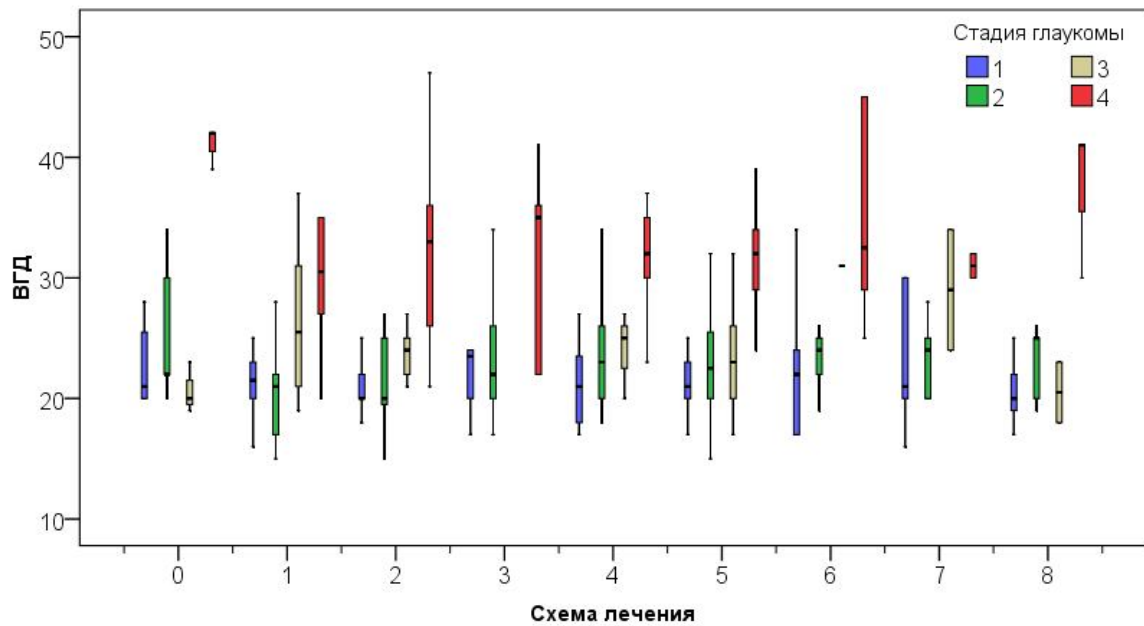


Рисунок 49 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии ПОУГ и схемы лечения в группе неоперированных глаз с компенсированным ВГД, 95 % доверительный интервал

Изучение эффективности консервативной терапии по анализу 548 глаз показало (из них 36 глаз без местного гипотензивного медикаментозного лечения), что с увеличением ПОУГ значение среднего ВГД закономерно возрастало, как и в других группах сравнения, несмотря на его компенсированный уровень, различия статистически достоверны ($p = 0,000008$). Распределение значений ВГД в зависимости от стадии глаукомного процесса представлено на рисунке 50.

По данным статистического анализа, не обнаружено значимого влияния каждой из схем лечения на поддержание целевого ВГД. Каждая из групп препаратов обладала сходным гипотензивным эффектом при рассмотрении без учета стадии глаукомы, ($p = 0,37029$). Распределение средних показателей ВГД по схемам медикаментозной терапии представлено на рисунке 51.

Далее проведено изучение гипотензивного эффекта схем консервативной терапии на различных стадиях глаукомы у пациентов с компенсированным ВГД. Попарное сравнение сочетанного воздействия двух факторов – стадии и схемы лечения – на уровень ВГД позволило выявить следующие закономерности.

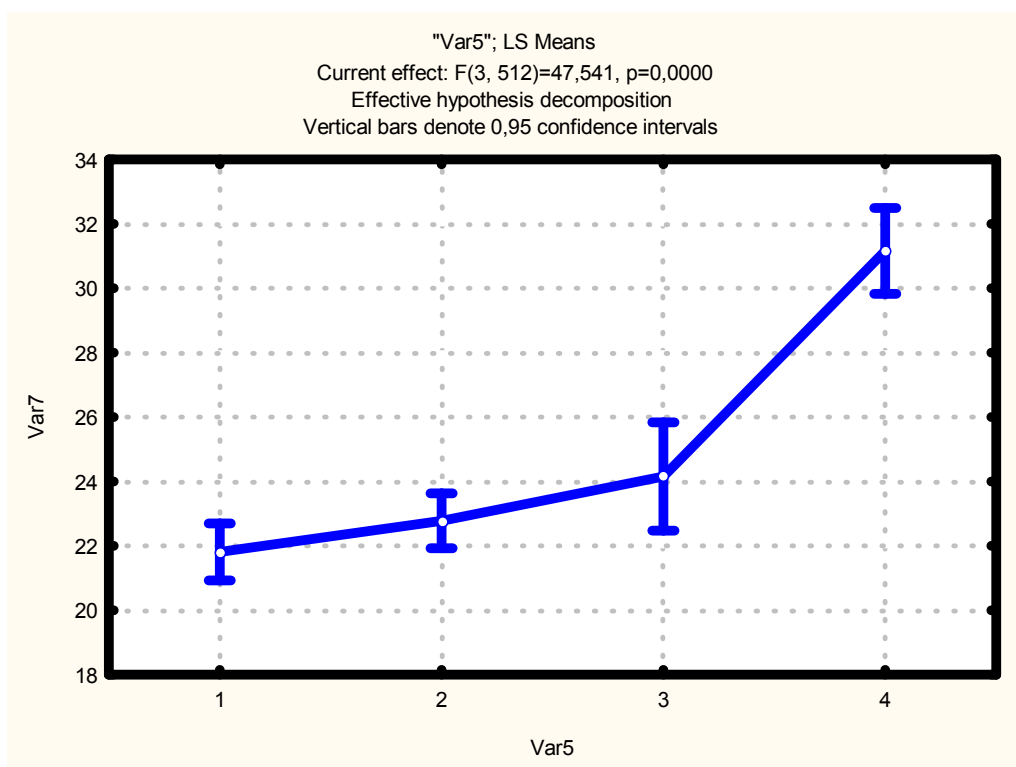


Рисунок 50 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии глаукомы – наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал

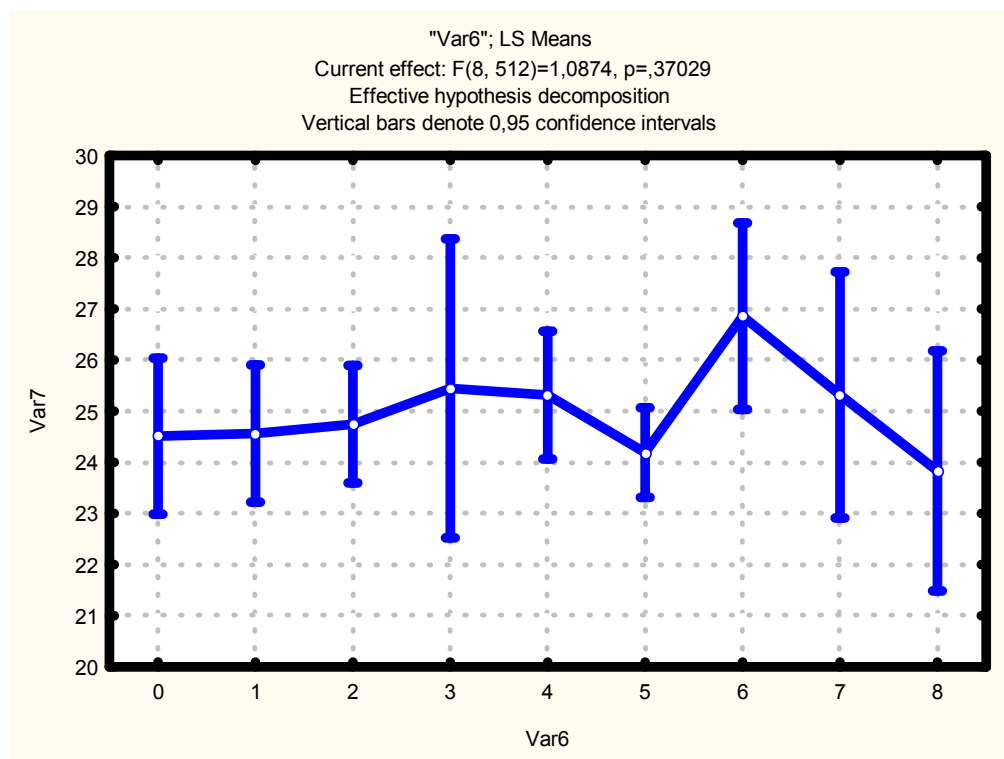


Рисунок 51 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы консервативной терапии – наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал
У пациентов с I, II и III стадиями ни одна из схем не привела к

статистически более частому достижению ВГД на уровне 26 мм рт. ст. и ниже ($p > 0,5$). На IV стадии выявлен статистически значимый гипотензивный эффект препаратов схем 2 и 6, при применении которых ВГД снижалось до уровня 20–24 мм рт. ст. ($p < 0,0001$). При лечении на IV стадии с использованием схемы 5 также отмечено достоверно более частое снижение ВГД в пределах 21–24 мм рт. ст., уровень значимости ($p < 0,01$). Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии глаукомы и схемы гипотензивного лечения представлено на рисунке 52.

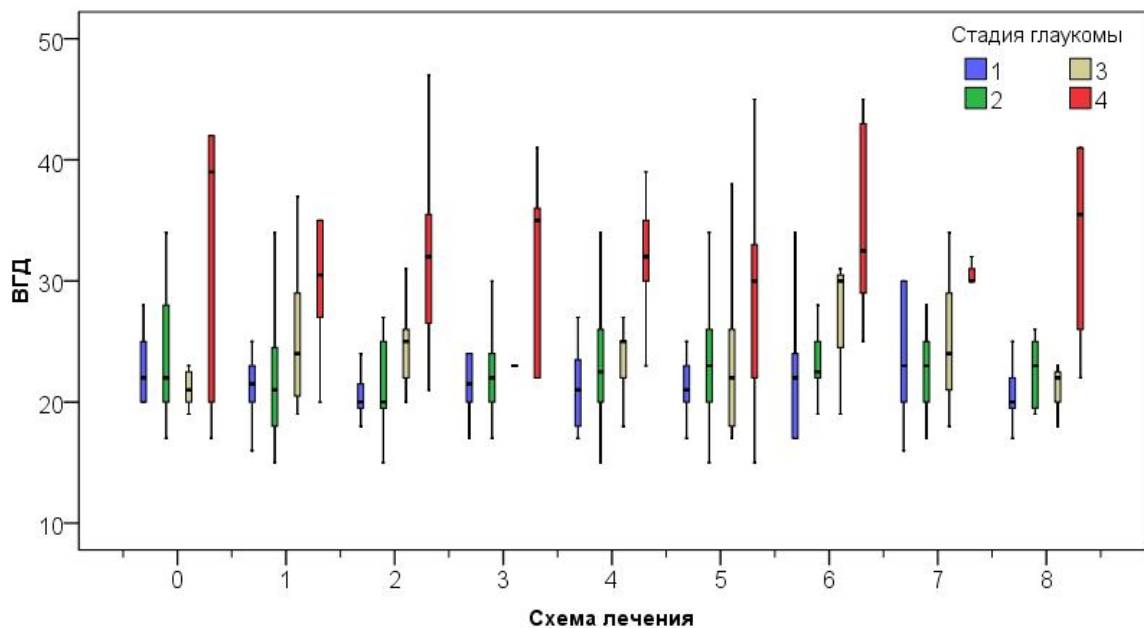


Рисунок 52 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии глаукомы и схемы лечения – суммарно наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал. На III стадии ПОУГ при применении схемы 3 – 1 наблюдение

Анализ эффективности местной медикаментозной терапии при рефрактерном течении ПОУГ ($n = 122$) глаза. Изучение эффективности консервативной терапии с увеличением стадии ПОУГ показало закономерное возрастание средних показателей ВГД, различия статистически достоверны ($p = 0,00113$). Распределение значений ВГД в зависимости от стадии ПОУГ представлено на рисунке 53. Мультифакторный анализ был невозможен в связи с малочисленностью наблюдений.

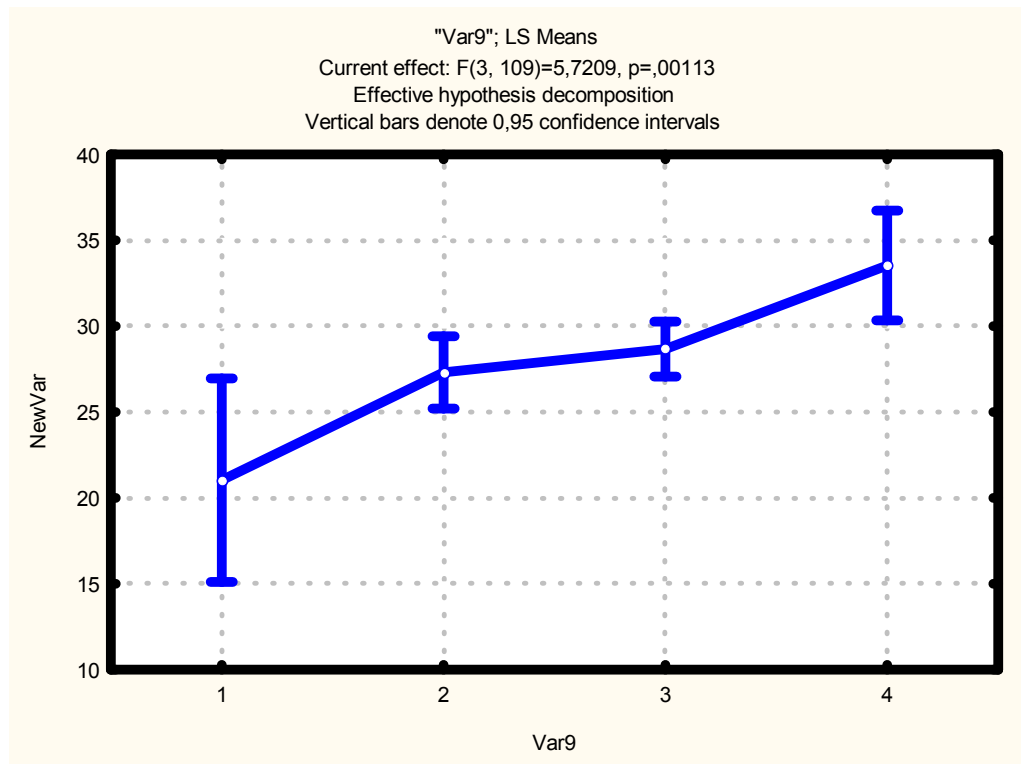


Рисунок 53 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии ПОУГ в группе с рефрактерным течением, 95 % доверительный интервал

Статистический анализ наблюдений с рефрактерным течением ПОУГ не выявил существенного влияния медикаментозной терапии на эпизоды снижения ВГД при наличии достоверного распределения по стадиям глаукомы.

В целом, статистический анализ результатов гипотензивного лечения пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД перед первой операцией продемонстрировал отсутствие достоверных отличий на I и II стадиях, на III стадии – наличие ответа на терапию β -блокаторами до уровня 20–24 мм рт. ст. ($p < 0,0001$); на IV стадии достоверно более низкое ВГД (24 мм рт. ст. и ниже) наблюдалось у пациентов, применявших препараты схем 2, 5 и 6 ($p < 0,0001$) и ингибиторы карбоангидразы с тенденцией к снижению ВГД, что купировало болевой синдром и повышало качество жизни пациентов.

Среди неоперированных пациентов с компенсацией ВГД не обнаружено значимого влияния схемы лечения на поддержание ВГД в пределах целевых значений. Каждая схема обладала гипотензивным эффектом при анализе без учета стадии ПОУГ ($p = 0,44583$). С учетом стадии ПОУГ: на I, II и III стадиях

снижение ВГД не зависело от схемы лечения, на IV стадии относительно эффективны схемы 2, 5 и 6 ($p < 0,0001$). При анализе в совокупности с повторно оперированными с компенсированным ВГД результаты аналогичны с одним исключением – на IV ст. отсутствовала достоверная эффективность схемы 5.

Согласно Национальному руководству по глаукоме [20], оптимальные характеристики верхней границы офтальмотонуса у больных глаукомой на фоне применения местной гипотензивной терапии таковы: I (начальная) стадия – 22–24, II (развитая) – 19–21 и III (далеко зашедшая) – 16–18 мм рт. ст. Следует отметить, что проведенный нами ретроспективный анализ выявил недостижение целевого уровня ВГД у всех пациентов.

Далее изучили изменения хрусталика у пациентов с ПОУГ. Сочетание глаукомы с помутнением хрусталика диагностируют у 17–76 % пациентов [40]. Глаукома и катаракта развиваются на фоне процессов старения организма, и частота их увеличивается с возрастом, что является общим для этих заболеваний. Косвенное влияние глаукомы на хрусталик связывают с применением местной гипотензивной терапии. С другой стороны, нельзя исключить влияние антиглаукомных операций, сопровождающихся выраженной гипотонией в раннем послеоперационном периоде, на прогрессирование помутнений хрусталика.

Биомикроскопию переднего отрезка глаза проводили на щелевой лампе фирмы TOPCON Corporation (Япония). При осмотре обращали внимание на состояние конъюнктивы и склеры, прозрачность роговой оболочки, наличие рубцов; определяли глубину передней камеры; исследовали состояние радужной оболочки, ее пигментной каймы; реакцию зрачка на свет, его центрацию, диаметр и форму, наличие передних и задних синехий, а также положение, степень прозрачности хрусталика и стекловидного тела. В послеоперационном периоде обращали внимание на состояние зоны хирургического вмешательства, состоятельность конъюнктивального шва.

При биомикроскопической оценке фильтрационных подушек использовали классификацию, предложенную Е.С. Ивановой (1999). Фильтрационную подушку расценивали как плоскую при наличии незначительной отечности и

приподнятости тканей над зоной вмешательства. Умеренно выраженной считали относительно тонкостенную подушку, не превышающую в диаметре 8 мм; выраженной – превышающую по наибольшему диаметру 8 мм, относительно тонкостенную, без признаков кист. Кистозной считали тонкостенную подушку, заходящую на роговицу и превышающую в диаметре 8 мм. Оценивали также степень васкуляризации.

Измерение ВГД выполняли методом аппланационной тонометрии по Маклакову. Гониоскопию проводили с помощью трехзеркальной линзы Гольдмана. Офтальмоскопию глазного дна проводили с помощью ручного электрического офтальмоскопа HEINE BETA 200® OPHTHAMOSCOPE (Германия), в условиях медикаментозного мидриаза 1 % раствором тропикамида (мидриацил). Исследовали отношение величины глаукоматозной экскавации диска зрительного нерва к его диаметру; ход и калибр сосудов, наличие или отсутствие дистрофических изменений сетчатки.

При общем анализе клинических наблюдений 1197 глаз с ПОУГ в сочетании с помутнением хрусталика, были выделены 2 группы, по принципу неоперированные и оперированные пациенты по поводу ПОУГ и применявших местную гипотензивную терапию.

Во всех схемах лечения у большего количества наблюдений определялась незрелая катаракта. Зрелая катаракта выявлена только во 2, 3, 5, 6, 8 схемах. Прозрачный хрусталик диагностировали при лечении по схеме 5, начальная катаракта – схема 1, при незрелой катаракте схемы терапии варьировали, но большее количество наблюдений определялось в схеме 5 и 4. Зрелая катаракта наблюдалась у большинства пациентов при применении β -блокаторов и в меньшем количестве – при использовании схемы 5.

Анализ результатов состояния хрусталика в зависимости от ВГД и гипотензивной терапии (таблица 6). показал, что зрелая катаракта встречалась в 2 раза чаще в группе с декомпенсированным ВГД по сравнению с компенсированным при использовании комбинированной терапии β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы. В остальных наблюдениях структура

хрусталика в зависимости от схем лечения и ВГД не имела значительных отличий. У большего количества пациентов, применявших местную гипотензивную терапию, определялась незрелая катаракта, за исключением схем 3, 5 и 7. В 3 схеме 40 % случаев составляла артифакция. В 5 и 7 схемах лечения ПОУГ было равное количество наблюдений с незрелой катарактой и артифакцией, 42 % и 34 % соответственно.

Таблица 6 – Состояние хрусталика в зависимости от ВГД и схемы терапии

Группы / Схемы	Степень помутнения хрусталика Абс. (%)				
	прозрачный хрусталик (n=84/87)	начальная катаракта (n=50/53)	незрелая катаракта (n=288/33)	зрелая катаракта (n=9/7)	артифакция (n=32/42)
1 (n = 7/14)	10 (12 %)	15 (30 %)	40 (14 %)	0	3 (9 %)
	12 (14 %)	13 (25 %)	47 (14 %)	0	3 (4 %)
2 (n = 9/19)	12 (14%)	3 (6 %)	45 (16 %)	4 (45 %)	8 (25 %)
	11 (13 %)	6 (11 %)	51 (15 %)	3 (43 %)	4 (12,5 %)
3 (n = 5/5)	2 (2 %)	1 (2 %)	13 (5 %)	1 (11 %)	4 (13 %)
	2 (2 %)	4 (8 %)	16 (5 %)	1 (14 %)	2 (6 %)
4 (n = 10/15)	18 (21 %)	5 (10 %)	53 (18 %)	0	2 (6 %)
	19 (22 %)	6 (11 %)	60 (17 %)	0	6 (19 %)
5 (n = 23/34)	27 (32 %)	10 (20 %)	73 (25 %)	2 (22 %)	7 (22 %)
	29 (34 %)	11 (21 %)	88 (26 %)	3 (43 %)	14 (44 %)
6 (n = 9/12)	8 (10 %)	7 (14 %)	19 (7 %)	1 (11 %)	0
	7 (8 %)	4 (6 %)	19 (6 %)	0	4 (13 %)
7 (n = 4/4)	2 (2 %)	3 (6 %)	8 (3 %)	0	2 (6 %)
	3 (3 %)	2 (4 %)	9 (3 %)	0	3 (9 %)
8 (n = 4/6)	1 (1 %)	2 (4 %)	10 (3 %)	1 (11 %)	3 (9 %)
	1 (1 %)	2 (4 %)	14 (4 %)	0	2 (6 %)
0 (n = 10/11)	4 (5 %)	4 (8 %)	27 (9 %)	0	3 (9 %)
	3 (3 %)	5 (10 %)	33 (10 %)	0	4 (12 %)
Примечание. при декомпенсированном ВГД					

Анализ состояния хрусталика у оперированных пациентов с ПОУГ с местной гипотензивной терапией показал, что прозрачный хрусталик определялся у 25 % пациентов, использующих β -блокаторы, больше 20 % применявших комбинированную терапию β -блокаторами, ингибиторами карбоангидразы и при их сочетании с аналогами простагландинов. Начальная катаракта выявлялась при лечении по схеме 2. Незрелая катаракта диагностировалась у большинства пациентов без местной гипотензивной терапии. При 1,5 и 8 схемах лечения имела место зрелая катаракта.

Анализ результатов состояния хрусталика в зависимости от ВГД и гипотензивной терапии в группе с оперированной ПОУГ (таблица 7) показал, что прозрачный хрусталик чаще всего встречался у пациентов с компенсированным ВГД применявших комбинацию препаратов: β -блокаторов, ингибиторов карбоангидразы и аналогов простагландинов. Начальная катаракта в группе с компенсированным ВГД во 2 схеме лечения, незрелая катаракта у пациентов использующих комбинированную терапию β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы, и зрелая катаракта наблюдалась всего в 4 случаях в условиях применения 1, 5 и 8 схем.

Таким образом, анализ состояния хрусталика глаза у пациентов с ПОУГ, применявших местную гипотензивную терапию, не выявил корреляций в зависимости от схемы лечения.

При анализе особенностей динамики ПОУГ при рефрактерном течении было установлено, что у мужчин процесс рубцевания фильтрационных подушек встречался в 1,6 раза чаще (62 %), чем у женщин (404 и 246 глаз соответственно). Просматривается тенденция развития рефрактерного течения ПОУГ у пациентов с далеко зашедшими стадиями ПОУГ во всех группах – 56,2 % наблюдений. Во II-й стадии ПОУГ частота выявляемости рефрактерных форм заболевания в среднем составляет 28,1 %. При сравнении данных о приоритете используемых гипотензивных препаратов было установлено, что в предоперационном периоде чаще других схем лечения была использована комбинированная терапия (по рекомендуемым алгоритмам лечения глаукомы).

Таблица 7 – Состояние хрусталика в зависимости от ВГД у оперированных пациентов (расчет процентов по вертикали)

Группы / Схемы	Степень помутнения хрусталика Абс. (%)				
	прозрачный хрусталик (n = 9/19)	начальная катаракта (n = 6/8)	незрелая катаракта (n = 40/60)	зрелая катаракта (n = 2/2)	артифакция (n = 24/31)
1 (n = 7/14)	0	0	6 (15 %)	1 (50 %)	0
	2 (11 %)	1 (12,5 %)	10 (17 %)	0	1 (3 %)
2 (n = 9/19)	2 (11 %)	2 (32 %)	3 (7,5 %)	0	2 (8 %)
	5 (26 %)	1 (12,5 %)	8 (13 %)	0	5 (16 %)
3 (n = 5/5)	1 (11 %)	1 (17 %)	0	0	3 (13 %)
	1 (5 %)	1 (12,5 %)	2 (3 %)	0	1 (3 %)
4 (n = 10/15)	0	1 (17 %)	7 (17,5 %)	0	2 (8 %)
	1 (5 %)	1 (12,5 %)	11 (19 %)	0	2 (6 %)
5 (n = 23/34)	1 (11 %)	1 (17 %)	11 (27,5 %)	0	10 (42 %)
	5 (26 %)	1 (12,5 %)	13 (22 %)	1 (50 %)	14 (46 %)
6 (n = 9/12)	3 (34 %)	0	4 (10 %)	0	2 (8 %)
	3 (17 %)	1 (12,5 %)	5 (8 %)	0	3 (10 %)
7 (n = 4/4)	1 (11 %)	0	1 (2,5 %)	0	2 (8 %)
	0	1 (12,5 %)	2 (3 %)	0	1 (3 %)
8 (n = 4/6)	0	0	3 (7,5 %)	1 (50 %)	0
	1 (5 %)	0	4 (7 %)	0	1 (3 %)
0 (n = 10/11)	1 (11 %)	1 (17 %)	5 (12,5 %)	0	3 (13 %)
	1 (5 %)	1 (12,5 %)	5 (8 %)	1 (50%)	3 (10 %)
Примечание. - при декомпенсированном ВГД					

Заслуживает внимания и факт более частотой необходимости повторных антиглаукомных вмешательств при приеме аналогов β-блокаторов и ингибиторов карбоангидразы (27 глаз пациентов, 51,5 %) и аналогов простагландинов (13 глаз, 27,9 %) в сравнении с комбинацией аналогов простагландинов и β-блокаторов (15 глаз, 26,4 %) и монотерапии β-блокаторами (15 глаз, 25 %) (таблица 8). Однако

при анализе пациентов с различными стадиями ПОУГ данная тенденция прослежена только в группе больных с развитой стадией.

Таблица 8 – Количество глаз пациентов в условиях применения различных групп препаратов местной гипотензивной терапии при рефрактерном течении ПОУГ

Схе- мы	Препараты	Стадии ПОУГ, абс. (%)		Общее количество в %
		развитая	далеко зашедшая	
1	Аналоги простагландинов	6 (17,6 %)	7 (10,3 %)	27,9
2	β-блокаторы	2 (5,9 %)	13 (19,1 %)	25
3	Ингибиторы карбоангидразы	0	2 (3,0 %)	3
4	Аналоги простагландинов + β-блокаторы	3 (8,8 %)	12 (17,6 %)	26,4
5	β-блокаторы+ингибиторы карбоангидразы	8 (23,6 %)	19 (27,9 %)	51,5
6	Аналоги простагландинов+ингибиторы карбоангидразы	6 (17,6 %)	5 (7,3 %)	24,9
7	Аналоги простагландинов + β- блокаторы+ ингибиторы карбоангидразы	2 (5,9 %)	2 (3,0 %)	8,9
8	α2-адреномиметик + β-блокатор	2 (5,9 %)	4 (5,9 %)	11,8
0	Без терапии	5 (14,7 %)	4 (5,9 %)	20,6

В отношении пациентов с далекозашедшей стадией ситуация выглядит несколько иначе – необходимость повторного оперативного вмешательства у больных, получавших β-блокаторы, была выше, чем в группе с аналогами простагландинов. Одной из причин такого исхода оперативного лечения ПОУГ у пациентов, принимающих аналоги простагландинов, вероятно, является относительно позднее назначение данных лекарственных средств. Кроме того, это нередко терапия «отчаяния», когда цифры ВГД превышают нормативные значения в 2 и более раз. Большое количество пациентов, принимающих в качестве монотерапии β-блокаторы (25 %), обусловлено их низкой стоимостью и возможностью получения по льготным спискам.

Наиболее короткий период компенсации ВГД в отдаленные сроки оперативного лечения отмечен у пациентов, использующих 8 схему лечения, что составило 2,6 лет. Период компенсации ВГД у пациентов с развитой и далеко зашедшей стадиями ПОУГ был примерно одинаковым (таблица 9).

Таблица 9 – Длительность периода компенсации ВГД после антиглаукомной операции у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ

Схе- мы	Препараты	Количество пациентов (n = 122)	Средний возраст, лет	Период компенсации ВГД, мес
1	Аналоги простагландинов	14	66,0 ± 2,8	36,7 ± 10,1
2	β-блокаторы	20	66,2 ± 2,3	36,0 ± 8,3
3	Ингибиторы карбоангидразы	5	66,2 ± 4,7	37,0 ± 16,9
4	Аналоги простагландинов + β-блокаторы	15	65,9 ± 2,8	38,0 ± 9,9
5	β-блокаторы + ингибиторы карбоангидразы	34	66,2 ± 1,8	36,3 ± 6,4
6	Аналоги простагландинов + ингибиторы карбоангидразы	12	65,6 ± 3,1	32,6 ± 9,9
7	Аналоги простагландинов + β-блокаторы + ингибиторы карбоангидразы	4	65,3 ± 5,6	31,7 ± 16,5
8	α2-адреномиметик + β-блокаторы	6	62,4 ± 5,6	31,4 ± 12,6
0	Без терапии	11	65,8 ± 3,2	32,5 ± 10,3

В целом, анализ особенностей течения послеоперационного периода у пациентов в зависимости от гипотензивной терапии, показывает преимущество комбинированного лечения рефрактерной ПОУГ. Тем не менее, относительно более короткие сроки компенсации ВГД в послеоперационном периоде у пациентов, принимавших фиксированную комбинацию альфа-2-адреномиметиков и β-блокаторов, требуют дальнейшего изучения влияния данных препаратов на процесс рубцевания фильтрационных подушек.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным гистологического изучения склеральных лоскутов и ультразвуковой визуализации послеоперационных дренажных путей, исследованы структурные основы фиброзирования фильтрационных подушек при рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы в условиях применения местных гипотензивных препаратов различных групп, и продемонстрированы ультраструктурные и иммуногистохимические маркеры ремоделирования соединительной ткани склеры.

Экстрацеллюлярный матрикс – ключевой компонент большинства тканей многоклеточных организмов, формируемый сложными белково-углеводными молекулами, которые заполняют внеклеточные пространства и обеспечивают не только структурный базис тканевой организации, но и сигнальную основу происходящих процессов жизнедеятельности, выступая в роли регуляторов миграции, деления и дифференцировки различных клеток. Поддержание интегративности внеклеточного матрикса необходимо для нормальной структуры и функции соединительной ткани, а также для всех тканей, кооперируемых с ней в различных органах. При фиброгенезе имеет место усиление отложений экстрацеллюлярного матрикса до патологических, а не физиологических показателей [57; 58; 81; 228].

Ведущим фактором риска в развитии ПОУГ с повреждением зрительного нерва является повышенное ВГД, генерируемое в системе циркуляции ВГЖ в переднем сегменте глаза. ВГЖ секретируется непигментированным цилиарным эпителием и течет в угол передней камеры глаза, где фильтруется трабекулярной сетью в шлеммов канал [54; 218]. При ПОУГ увеличено сопротивление прохождению ВГЖ в трабекулярной сети, особенно в юкстаканаликулярной соединительной ткани, что и приводит к повышению ВГД [107; 211].

На протяжении многих лет изучают структурные особенности клеток и тканей переднего отрезка глаза при различных типах глаукомы и в условиях различных методов коррекции. Так, изучают проход ВГЖ в лимфодренажной

системе глаза, в частности, роль гигантских вакуолей. В одной из работ оценивали взаимоотношения между гигантскими вакуолями и коллекторными канальцами, а также взаимоотношения между гигантскими вакуолями и ультраструктурными характеристиками ЮКТ [193]. Для выяснения взаимоотношения между гигантскими вакуолями и коллекторными каналами шесть глаз были перфузированы забуференным фосфатом физиологическим раствором 20 мм рт. ст. и затем фиксированы. Были выполнены серийные срезы во фронтальной плоскости, использовалась световая микроскопия для подсчета числа гигантских вакуолей на длину шлеммова канала с определением их количества между двумя соседними коллекторными канальцами, а также трансмиссионная электронная микроскопия. Ультраструктурные компоненты ЮКТ были подсчитаны с помощью системы анализа изображений.

В результате авторами показано, что в выстилке шлеммова канала в два раза больше гигантских вакуолей в регионах, расположенных под коллекторными канальцами, чем в регионах между канальцами. Гигантские вакуоли отмечались как во внутренней, так и во внешней стенке канала, но были более многочисленными во внутренней стенке. Не было обнаружено значительного увеличения оптически пустого пространства в регионах ЮКТ, расположенных под гигантскими вакуолями, по сравнению с регионами без вакуолей. Оценка величины оптически пустых пространств, непосредственно граничащих с эндотелиальными клетками внутренней стенки, не выявила значительных различий между регионами под вакуолями и регионами без гигантских вакуолей.

Таким образом, гигантские вакуоли обнаружены непосредственно около коллекторных канальцев, свидетельствуя о том, что пассаж ВГЖ около внутренней стенки является чувствительным к давлению «вниз по течению».

Наряду с функциональной активностью шлеммова канала и коллекторных канальцев в возрастании резистентности трабекулярной сети к оттоку ВГЖ при ПОУГ определенную роль могут играть изменения экстрацеллюлярного матрикса [228]. В частности, нарушение уровней модуляторов гомеостаза экстрацеллюлярного матрикса, например, матриксных металлопротеиназ-2, -3 и -

14 также отмечено в решетчатой пластинке при ПОУГ. Матриксные металлопротеиназы – цинк-зависимые эндопептидазы, деградирующие компоненты матрикса, в частности, коллаген и фибронектин. Они являются важными модуляторами оттока ВГЖ в связи с их способностью ремоделировать основное вещество соединительной ткани трабекулярной сети и поддерживать постоянную резистентность оттоку с подъемом ВГД, поэтому металлопротеиназы рассматривают как потенциальные терапевтические мишени для лечения глаукомы

Важно отметить определенную трудность в изучении клинического материала, и большинство исследований структурных изменений трабекулярной сети, клеток и волокон склеры, а также экстрацеллюлярного матрикса выполнены на образцах из банков данных (трупных глазах), в меньшем количестве – на экспериментальных моделях глаукомы, как правило, недостаточно полно воспроизводящих реальную клиническую ситуацию. Кроме того, в последние годы активно используют метод культивирования клеток и тканей из различных отделов глаза, что позволяет исследовать роль регуляторных субстанций и их рецепторов, а также тестировать новые лекарственные средства. Таким образом, работы по изучению гистологических изменений глаз пациентов с глаукомой не столь многочисленны.

В одном из таких исследований, выполненных по данным светооптического и ультраструктурного анализа клинических образцов склеры при развитии первичной ювенильной глаукомы [35], обнаружены гетерогенные, в различной степени выраженные структурные изменения соединительнотканых компонентов дренажной системы глаза. Прилежащая к эндотелию шлеммова канала ЮКТ вначале имеет тенденцию к усилению фиброгенеза, затем начинается деградация соединительной ткани – изменения тинкториальных свойств коллагеновых и эластических волокон, редукция клеточных элементов, в финале – истончение этого слоя. Ультраструктурный анализ выявил гетерогенность коллагеновых фибрилл с тенденцией к нарастанию осмиофильности по мере прогрессирования первичной ювенильной глаукомы.

Полученные результаты интерпретированы с позиций концепции о взаимосвязи десмолитических и десмопластических (анти- и профиброгенных) процессов. Системная anomальная перестройка соединительной ткани при первичной ювенильной глаукоме как «злокачественном» варианте глаукомного процесса определяет диффузные дегенеративно-дистрофические изменения дренажной системы глаза и интрасклеральных нервных волокон и является основой всех последующих структурно-функциональных изменений глаза. Показано, что прогноз первичной ювенильной глаукомы определяется балансом двух фундаментальных клеточных реакций эндотелия дренажной системы глаза – дегенерации и регенерации. Это является важным элементом среди звеньев патогенеза ПЮГ, возникающей в возрасте 11–35 лет. В патогенезе заболевания ведущая роль принадлежит трабекулопатии и/или гониодисгенезу. Уровень ВГД повышен, изменения диска зрительного нерва и зрительных функций протекают по глаукомному типу. В дополнение к этому продемонстрированы генетически детерминированные качественные и количественные изменения гликозаминогликанов соединительной ткани [35].

Нами показано, что в образцах склеры впервые оперированных пациентов с ПОУГ и декомпенсированным ВГД структурная организация склеры довольно сильно варьировала и не зависела от стадии глаукомы и возраста. Элементы корнеосклеральной трабекулярной сети либо участки юстаканаликулярной ткани иногда содержали одиночные или многочисленные зерна меланина, фагоцитируемые макрофагами, что свидетельствует о важной роли синдрома пигментной дисперсии в развитии ПОУГ.

Коллекторные каналы с относительно узкими просветами, выстланы уплощенным эндотелием; водяные вены с широкими просветами, сравнительно высоким пролиферирующим эндотелием и периваскулярными матрикс-продуцирующими клетками. Электронно-микроскопическое исследование склеральных лоскутов продемонстрировало в различной степени выраженные деструктивные и внутриклеточные регенераторные процессы клеточных элементов и волокон основного вещества соединительной ткани.

Биосинтетически активные матрикс-продуцирующие клетки склеры (фибробласты) у впервые оперированных пациентов локализовались преимущественно вблизи элементов дренажной системы глаза. В целом, светооптическое исследование парафиновых, полутонких и ультратонких срезов склеральных лоскутов впервые оперированных пациентов не выявило каких-либо достоверных закономерностей в структурной организации соединительной ткани в зависимости от применяемой до антиглаукомной операции схемы медикаментозной моно- или комбинированной терапии.

При электронно-микроскопическом исследовании не выявлены явные различия в ультраструктурной организации эндотелиальных клеток коллекторных канальцев в склеральных лоскутах и повторно оперированных пациентов, отражая баланс цитодеструкции и клеточной регенерации и не зависела от применяемой до антиглаукомной операции схемы местной гипотензивной терапии. Тем не менее, выявлены различия при изучении экспрессии молекулярно-биологического маркера CD34 с помощью двухшагового непрямого иммуногистохимического исследования парафиновых срезов склеральных лоскутов.

Иммуногистохимический маркер CD34 – гликопротеин плазмолеммы с одиночным трансмембранным фрагментом, функции которого до конца не выяснены, однако этот белок экспрессируется при индукции ангиогенеза, участвует в механизмах межклеточной адгезии; CD34-позитивные клетки в различных тканях ассоциированы с низкодифференцированными клетками. Взаимодействуя с L-селектином, CD34-позитивные клетки участвуют в развитии воспаления; в целом, независимо от его функций, он способствует миграции стромальных клеток [163].

Нами показано, что у впервые оперированных пациентов при иммуногистохимическом изучении склеральных лоскутов экспрессия CD34 имела место в эндотелиальных клетках и перицитах коллекторных каналов, сочетаясь с расширением их просветов; при этом биомаркер характеризовался наибольшей экспрессией в склеральных лоскутах пациентов без медикаментозного лечения. У пациентов с рефрактерным течением ПОУГ, по данным УБМ, наилучший эффект

получен при использовании в послеоперационном периоде комбинированной терапии – сочетания β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы. Несмотря на то, что ВГД не достигало целевых значений, и при УБМ-исследовании зоны оперативного вмешательства выявлены плоские фильтрационные подушки с редуцированной или низкой интрасклеральной полостью, относительно большее количество CD34-позитивных клеток отмечено при применении β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. С учетом данных УБМ, визуализирующих в этих случаях рыхлую и большую по площади фильтрационную подушку, можно предположить позитивную роль экспрессирующих CD34 клеточных элементов в ее функционировании. Кроме того, заслуживает внимания сам факт экспрессии CD34 (маркера эндотелиоцитов кровеносных сосудов) эндотелиоцитами лимфатических сосудов склеры при глаукоме.

Глаукома – одна из ведущих причин инвалидности по зрению и слепоты во всем мире [44]. По оценкам, распространенность глаукомы в связи с демографическим ростом и старением населения от 60 миллионов в 2010 г. до около 80 млн в 2020 г. Наиболее актуальной проблемой в области изучения и лечения глаукомы является обеспечение пациентам в течение максимально более длительного периода времени сохранение зрительных функций, крайне важных для качества жизни.

Одним из основных факторов, ухудшающих прогноз глаукомы, является поздняя диагностика, с более чем половиной недиагностированных случаев в общей популяции не только в развивающихся странах, но и в регионах с высоким уровнем медицинских стандартов. Будучи обычно бессимптомной в течение многих лет, глаукома часто диагностируется слишком поздно: половина пациентов страдают от развитой до выраженной (далеко зашедшей) стадии заболевания в худшем глазу до первого выявления даже у наций с высокими социально-санитарными стандартами, и это в значительной степени повышает человеческое и экономическое бремя болезни для людей и общества: у (50–75) % больных ПОУГ впервые диагностируют на III далеко зашедшей стадии. Глаукома

является не диагностируемой в 50% случаев на западе, с более высокими цифрами в конкретных этнических группах, и до 90% случаев в развивающихся странах.

При этом в нашем исследовании распределение по стадиям ПОУГ характеризовалось следующим образом: I стадия – (20–33) %; II стадия – (35–44) %; III стадия – (22–30) %; IV стадия – (7–19) %, что свидетельствует о достаточно хорошо поставленной работе по диспансеризации населения, в том числе сельского.

Как известно, измерение ВГД является обычной процедурой при рутинных посещениях офтальмолога, но иногда это является недостаточным для диагностики глаукомы, т.к. до половины пациентов с глаукомой могут не иметь повышенного ВГД (нормотензивная глаукома); многие офтальмогипертоники не нуждаются в лечении, и у них никогда не будет развиваться глаукома в течение их жизни. С другой стороны, глаукома является парадоксально часто перелеченной: многие пациенты усиленно лечатся, хотя они не имеют реальной болезни [155].

Основа стратегии скрининга – тонометрия, но она не всегда чувствительна и показательна. Предложены многие другие методы, основанные на исследовании морфологии глаза (диска зрительного нерва, ганглиозных клеток, слоя нервных волокон сетчатки). Некоторые испытания были зарекомендованы как имеющие более высокую производительность, особенно на основе удвоенной частоты периметрии, конфокальной лазерной сканирующей офтальмоскопии и кинетической периметрии, но их рекомендации по скринингу в общей популяции не столь доказательны. Это связано с широким диапазоном нормы [106].

Важны и надежные клинические маркеры характера течения глаукомы: он считается стабилизированным, когда при продолжительном наблюдении за больным (не менее 6 мес) не обнаруживают ухудшения в диске зрительного нерва и состоянии полей зрения. При нестабилизированной глаукоме при повторных исследованиях регистрируют ухудшения в состоянии диска зрительного нерва и нарушение полей зрения.

Проведенный нами ретроспективный статистический анализ 1197 глаз

пациентов с ПОУГ основан на оценке уровня ВГД с регистрацией его снижения, причем цифры компенсации не всегда соответствовали целевому уровню далеко зашедшей стадии глаукомы, который рекомендован Национальным руководством по глаукоме (2014) [20]. Мы проанализировали эффективность препаратов по частоте снижения уровня ВГД до более низких цифр, которые не достигали целевого ВГД. Наиболее частое снижение уровня ВГД до регистрируемых (20–24) мм рт. ст. установлено при применении 2 схемы лечения – β -блокаторов. Статистический анализ наблюдений с рефрактерным течением ПОУГ не выявил существенного влияния медикаментозной терапии на эпизоды снижения ВГД при наличии достоверного распределения по стадиям глаукомы.

Данные о частоте развития катаракты после антиглаукомных операций весьма противоречивы, что объясняется неодинаковым периодом наблюдения и различными критериями оценки изменений хрусталика. Еще более неоднозначны мнения исследователей о причинах подобного влияния фильтрующих операций: связано ли оно только с интраоперационной травмой хрусталика или с осложнениями раннего послеоперационного периода, или развитие катаракты происходит в результате гидродинамических изменений, возникающих в глазу в ходе антиглаукомного вмешательства [195].

Высказано предположение о том, что развитие катаракты после антиглаукомных операций может быть связано с метаболическими изменениями влаги передней камеры. Являясь единственным источником питания бессосудистых структур глаза, ВГЖ играет исключительно важную роль в физиологии и патофизиологии хрусталика и дренажной системы. Не решен вопрос: инициируют или ускоряют катаракту местные гипотензивные препараты? Например, ингибиторы холинэстеразы обладают катарактогенным эффектом, но это не было доказано.

Некоторые исследователи сомневаются в препаратах, которые подавляют образование ВГЖ и тем самым могут повлиять на метаболизм хрусталика, что может привести к катаракте. Наконец, другие исследователи предполагают, что консерванты в глазных каплях, таких как бензалкония хлорид, может привести к

помутнению хрусталика.

Анализ результатов состояния хрусталика в зависимости от ВГД и гипотензивной терапии в нашей работе показал, что зрелая катаракта встречалась чаще в группе с декомпенсированным ВГД по сравнению с компенсированным при использовании комбинированной терапии β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы. В целом, при анализе состояния хрусталика глаза у пациентов с ПОУГ, применявших местную гипотензивную терапию, не выявлены какие-либо корреляции в зависимости от конкретного препарата или группы препаратов с образованием катаракты.

Основной целью лечения глаукомы является снижение уровня ВГД, для этого применяют местную антигипертензивную медикаментозную терапию и оперативное лечение с созданием искусственных путей оттока ВГЖ.

При лечении глаукомы решают следующие задачи: сохранение зрения, достижение терапевтического эффекта при минимальном числе препаратов с минимумом побочных действий и сохранение приемлемого качества жизни. Патогенетически ориентированное медикаментозное лечение глаукомы направлено на снижение давления до толерантного уровня, уменьшение ишемии в структурах глаза, коррекцию нарушенного метаболизма, использование цито- и нейропротекторов, лечение сопутствующих заболеваний [38; 45].

При выборе препаратов и их комбинаций принимали во внимание эффективность снижения уровня ВГД у пациента с минимальными колебаниями в течение суток; кроме того, препараты должны отвечать следующим требованиям: сохранять гипотензивное действие в течение длительного времени; обладать минимумом побочных эффектов; иметь простой и удобный режим дозирования.

Оптимальные значения верхней границы ВГД у больных глаукомой в условиях применения местной гипотензивной терапии [20] : I – начальная стадия глаукомы (22–24) мм рт. ст.; II – развитая (19–21) мм рт.ст.; III – далекозашедшая (16–18) мм рт. ст. Учитывали явление «тахифилаксии» («ускользания» – снижение эффективности) при длительном применении лекарственного средства с необходимостью своевременной коррекции проводимой терапии при выявлении

малейших признаков субкомпенсации офтальмотонуса.

При назначении местной терапии стремились к назначению минимального количества лекарственных средств для достижения терапевтического эффекта в соответствии с рекомендуемыми принципами выбора местной гипотензивной терапии [26; 39; 106] и с учетом рекомендаций фирм-производителей: определение целевого ВГД; учет влияния назначенного режима на каждый глаз в отдельности; начало лечения с препарата первого выбора, при его неэффективности или плохой переносимости замена на другое лекарственными средствами из другой фармакологической группы или переход на комбинированную терапию из разных групп; комбинированная терапия не должна включать более двух лекарственных средств, предпочтительнее назначать фиксированных комбинаций; в зависимости от уровня ВГД – регулярный контроль состояния диска зрительного нерва и зрительных функций; учет комплаенса, или приверженности к лечению, пациента и его родственников (у пациентов преклонного возраста) к назначенному лечению с учетом сохранения приемлемого качества жизни.

Долгосрочный успех операции в первую очередь определяется эффективностью фильтрации вновь созданных дренажных путей – фильтрационной подушки, надежное функционирование которой является залогом достижения целевого давления при антиглаукомной хирургии [86].

Для оценки морфологии фильтрационной подушки и раннего прогнозирования ее потенциальной недостаточности (чтобы препятствовать склерозированию) применяют различные классификационные подходы. Согласно им, наиболее частой разновидностью неуспеха фильтрационной хирургии является формирование субконъюнктивального рубца, который требует интенсификации послеоперационного наблюдения за фильтрационной подушкой, даже если ВГД остается хорошо контролируемым [240].

В настоящее время клиническая оценка фильтрационных подушек включает в себя акценты на элементах васкуляризации, степени извитости сосудов, наличии инкапсуляций и микрокист; при этом высота подушки связана как с

положительными, так и с отрицательными аспектами и, как правило, исключена из большинства шкал, поскольку она может быть визуализирована или в течение фазы фильтрации ВГЖ, или при наличии кистозной (инкапсулированной) полости [226]. По мнению S.Furrer и соавт. (2012), адекватно функционирующие фильтрационные подушки имели большее количество микрокист, меньшее количество конъюнктивальных и извитых сосудов, более низкий уровень инкапсуляции и снижение высоты по сравнению с подушками с неблагоприятным исходом [142]. По данным S. Sacu и соавт. (2003), фильтрационные подушки с конъюнктивальными субэпителиальными микрокистами показали хороший прогноз, тогда как извитость сосудов прямо коррелировала с более высоким риском инкапсуляции [125]. Тем не менее, целевой показатель ВГД остается ведущим при применении всех методов лечения глаукомы, чтобы избежать прогрессирования повреждения зрительного нерва [226].

В проведенном нами УБМ-исследовании вновь созданных путей оттока ВГЖ наиболее существенные результаты получены при использовании местной комбинированной медикаментозной терапии – при сочетании β -блокаторов с простагландинами или с ингибиторами карбоангидразы, а также трехкомпонентной терапии - аналогов простагландинов, β -блокаторов и ингибиторов карбоангидразы одновременно, т.е. комплексное воздействие обеспечило сравнительно более выраженный гипотензивный эффект препаратов, назначенных в качестве монотерапии. Важно отметить, что применение фиксированных комбинаций гипотензивных антиглаукомных препаратов немного способствовало снижению ВГД у некоторых пациентов с рефрактерным течением ПОУГ. Образцы склеральных лоскутов повторно оперированных пациентов отличались сравнительно более выраженной пролиферативной реакцией фибробластов, приуроченных к лимфодренажным элементам и к зонам резекции.

При рефрактерном (или торпидном, упорном) течении ПОУГ имеет место ускоренное рубцевание зоны оперативного вмешательства и сокращение периода компенсации уровня ВГД, что требует проведения повторных хирургических вмешательств для предотвращения прогрессирования глаукомного процесса. В

межоперационном периоде пациентам назначают местную моно- или комбинированную гипотензивную терапию в различных сочетаниях, в том числе в виде комбинированных лекарственных форм [194; 214], однако проблема выбора медикаментозной терапии в межоперационном периоде для пациентов с рефрактерной ПОУГ остается недостаточно изученной.

Основной причиной снижения гипотензивного эффекта антиглаукомных операций является избыточное рубцевание и облитерация путей оттока ВГЖ в различные сроки после вмешательства вследствие выраженной фибропластической активности тканей глаза и усиления васкуляризации [54]. Офтальмохирургия развивается в направлении совершенствования способов профилактики избыточного рубцевания и усиления эффекта операции [9; 23].

В современной офтальмохирургии существуют способы предупреждения рубцовой блокады вновь созданных путей оттока ВГЖ; одним из наиболее распространенных является использование дренажей, изготовленных из различных материалов. Кроме того, разработана микроинвазивная непроникающая глубокая склерэктомия, позволяющая уменьшать объем хирургического вмешательства и минимизировать реактивность матрикс-продуцирующих клеточных элементов [73].

Наряду с этим, для предотвращения ускоренного рубцевания искусственно создаваемых путей оттока ВГЖ при непроникающей глубокой склерэктомии используют дренажные импланты для сохранения сформированной полости. Еще одним способом препятствования репаративным процессам в зоне оперативного вмешательства и получения стабильного гипотензивного эффекта в течение длительного послеоперационного периода является интра- и послеоперационное использование антипролиферативных препаратов, в том числе цитостатиков, кортикостероидов, а также протеолитических ферментов [28; 39; 87; 114; 140; 160; 174; 180; 189; 230].

Многие лекарственные препараты способствуют ускоренному развитию фиброза в различных органах [42]. Отмечено, что медикаментозное лечение глаукомы может вызывать патологические изменения конъюнктивы не только в

связи с аллергическими реакциями и токсичностью консервантов, но и с фиброзными изменениями, опосредованными парасимпатомиметиками, симпатомиметиками и β -блокаторами, хотя нет единого мнения о степени и характере негативного влияния гипотензивных препаратов на длительность эффекта антиглаукомных операций и дальнейшее прогрессирование патологического процесса [155].

В качестве прогностических маркеров ускоренного рубцевания искусственно созданных путей оттока ВГЖ рассматривают различные протеогликаны, в частности, фибронектин, который играет важную биологическую роль в заживлении ран, создавая субстрат для миграции и роста грануляционной ткани. Экспрессия фибронектина увеличена в культуре трабекулярных клеток из глаукомных глаз по сравнению с нормальными, что может свидетельствовать об участии в регуляции оттока ВГЖ. Изоформы фибронектина могут повреждать микроокружение путем трансформации клеточно-матриксного и внутриматриксного взаимодействия с отложением белковых депозитов, приводящих к снижению проницаемости трабекулярной сети [115].

Нами показано, что при рефрактерном течении ПОУГ плоские фильтрационные подушки с редуцированной интрасклеральной полостью сочетались с более выраженной пролиферативной реакцией фибробластов, формирующих перивенулярные клеточные инфильтраты и гранулемы вдоль краев резекции. Волокна и основное вещество соединительной ткани при функционировании фильтрационных подушек характеризовались низкой электронной плотностью.

Фибронектин – высокомолекулярный гликопротеин экстрацеллюлярного матрикса, взаимодействующий с интегринами, а также с коллагенами, фибрином, тенасцином, TNF- α и гепарансульфат протеогликанами, например, синдеканами. Нерастворимый фибронектин – компонент экстрацеллюлярного матрикса, продуцируемый преимущественно фибробластами, экспрессируется во внеклеточном матриксе (но не в базальных мембранах) и играет роли в клеточной

адгезии, миграции, дифференцировке, а также в заживлении ран и эмбриогенезе; его биосинтез ассоциирован с канцерогенезом и фиброгенезом – в фокусах вновь синтезируемых коллагеновых фибрилл [155]. Продукцию фибронектина индуцирует трансформирующий фактор роста β (TGF- β), уровень содержания которого повышен у пациентов с ПОУГ [79].

Таким образом, протеогликаны все еще остаются неизученными в патогенезе глаукомы; при этом таргетирование ряда этих молекул представляет собой привлекательную и многообещающую стратегию в регулировании компонентов экстрацеллюлярного матрикса, что позволит снизить темпы прогрессирования заболевания и улучшить результаты хирургического лечения.

Следует отметить, что в большинстве случаев нами не выявлена синхронность в экспрессии CD34 и фибронектина, продукты иммуногистохимической реакции имели разную локализацию, что может отчасти отражать определенную последовательность в реактивности соединительной ткани в фиброгенезе и/или характеризовать свойства соединительной ткани конкретного пациента определенным образом реагировать на повышенное ВГД. Таким образом, дальнейшее изучение молекулярно-биологических маркеров соединительной ткани склеры важно для понимания тканевых и клеточных механизмов ПОУГ.

Несмотря на явные достижения в лазерной и дренажной хирургии [174; 215; 230], местная медикаментозная терапия по-прежнему остается ведущим средством, с помощью которого контролируют ВГД. Кроме того, стандартом лечения впервые диагностированной ПОУГ также является местное лечение. Монотерапия, как правило, является первым этапом лечения, однако многие пациенты, особенно с рефрактерной глаукомой, нуждаются в дополнительном препарате для эффективного снижения ВГД и предотвращения прогрессирования глаукомы [168; 186; 194].

В настоящее время для снижения ВГД применяют 5 групп препаратов: из них наиболее часто используют антагонисты β -адренорецепторов (β -блокаторы), аналоги простагландинов и ингибиторы карбоангидразы; кроме того, имеют

доказанную эффективность α -адренергические агонисты и М-холиномиметики. Препараты могут быть использованы в различных сочетаниях благодаря их комплементарности в снижении ВГД [24; 106].

С учетом эффективности, переносимости и доступности, препаратами первой линии являются β -блокаторы и аналоги простагландинов. β -блокаторы снижают ВГД путем ингибирования продукции ВГЖ (рисунок 54) и в течение многих лет являются весьма эффективными при лечении глаукомы. Один из них – тимолол малеат – считается золотым стандартом антиглаукомной терапии [39; 157]. Он является неселективным антагонистом адренорецепторов и не проявляет явной симпатомиметической или мембраностабилизирующей активности. Блокирование β -адренорецепторов приводит к снижению уровня внутриклеточного вторичного посредника цАМФ, который участвует в сигнальных процессах, приводящих к торможению продукции ВГЖ [38; 122].

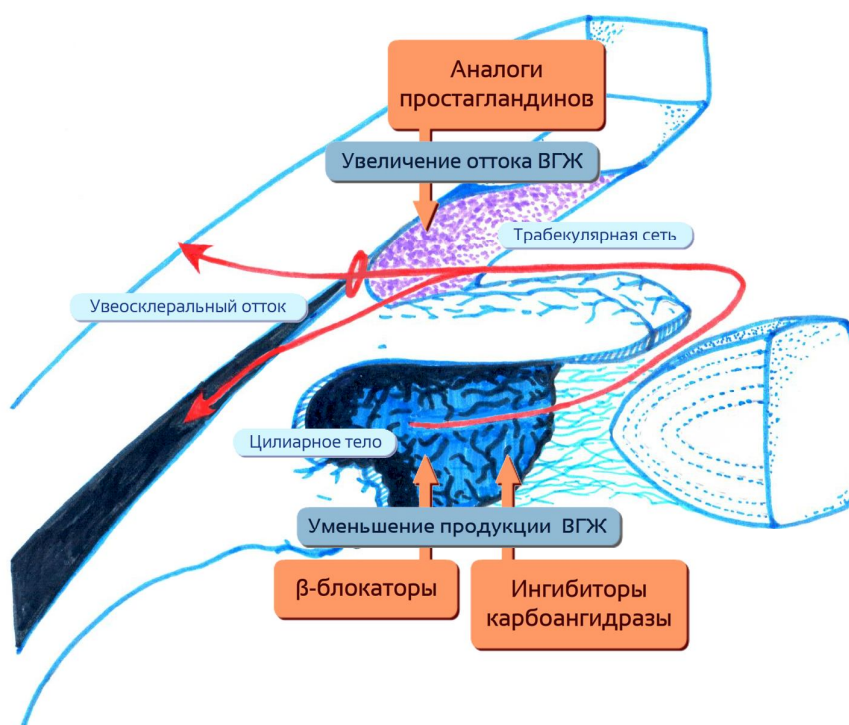


Рисунок 54 – Механизмы действия различных групп местных антиглаукомных гипотензивных препаратов на структурные элементы угла передней камеры глаза

β -блокаторы часто используются в качестве монотерапии, имеют хорошую переносимость, но могут вызвать системные (в т.ч. респираторные и кардиальные) побочные эффекты. Среди местных побочных эффектов – гиперемия конъюнктивы, чувство жжения, поверхностный точечный кератит и снижение продукции слезной жидкости с развитием синдрома сухого глаза [134].

Аналоги простагландинов также относятся к препаратам первой линии при лечении ПОУГ [79; 224]; снижение ВГД основано на увеличении трабекулярного и увеосклерального оттока. Аналоги простагландинов уменьшают ВГД лучше, чем тимолол [157; 203]; кроме того, они более эффективно предотвращают резкие подъемы ВГД и его колебания в течение суток [172; 232]. Препараты этой группы редко вызывают системные побочные эффекты, но они часто ответственны за значительные местные побочные эффекты, например, гиперемию конъюнктивы, чувство жжения, точечный кератит, изменения пигментации радужки, гипертрихоз ресниц, а также кистозный макулярный отек у пациентов с искусственным хрусталиком [95; 197; 202; 214].

Препаратами второй линии являются ингибиторы карбоангидразы и α -агонисты [46; 201]. Ингибиторы карбоангидразы снижают ВГД путем уменьшения продукции ВГЖ с помощью ферментативного ингибирования. Наиболее частыми побочными эффектами являются чувство жжения, зрительный дискомфорт, поверхностный точечный кератит и аллергический конъюнктивит. Ингибиторы карбоангидразы также могут ухудшить функцию эндотелиального насоса роговицы, тем самым вызывая патологию роговицы у предрасположенных пациентов [88; 175].

α -агонисты уменьшают продукцию ВГЖ и увеличивают увеосклеральный отток одновременно. При этом α_2 -агонисты нового поколения, например, бримонидин и апраклонидин, являясь более специфичными, вызывают меньше системных гипотензивных побочных эффектов, чем используемые ранее неселективные α -агонисты [232].

Выбором третьей линии при лечении ПОУГ являются холинергические агонисты – М-холиномиметики, эффективно снижающие ВГД за счет увеличения

обычного трабекулярного оттока в режиме от 3 до 4 инстилляций в день. Препараты из группы миотиков провоцируют тканевую воспалительную реакцию и могут привести к отслойке сосудистой оболочки глаза [106]. Несмотря на патогенетически обоснованное применение местных гипотензивных препаратов, монотерапия во многих случаях не обеспечивает адекватного снижения ВГД [24; 26]. Так, у пациентов с рефрактерной ПОУГ требуется более высокая эффективность снижения ВГД.

Взаимодополняющее действие двух препаратов часто служит в качестве основы для разработки комбинированных препаратов. Их важным преимуществом является два действующих начала в одной капле, что устраняет потенциальные последствия вымывания первого лекарства другим и способствует приверженности лечению (т.н. комплаенса). Кроме того, использование фиксированного комбинированного лекарства теоретически увеличивает его безопасность в связи с уменьшением дозы содержащихся в большинстве глазных капель консервантов (в т.ч. бензалконий-хлорида), которые обладают весьма выраженной дозозависимой токсичностью в отношении эпителия роговицы [63; 90; 95; 169; 203; 297].

Так, β -блокаторы, в частности, тимолол, хорошо комбинируются и комплементарны в гипотензивной эффективности с местными ингибиторами карбоангидразы и аналогами простагландинов [106; 122; 134; 159]. Например, фиксированные комбинации дорзоламид/тимолол (косопт) и бринзоламид/тимолол (азарга) являются столь же эффективными для снижения ВГД, как при инстилляции их компонентов в качестве монотерапии. Применение комбинированных препаратов два раза в день обеспечивают лучший контроль ВГД, чем аналоги простагландинов один раз в день. При этом дорзоламид усиливает кровоток в сосудистой оболочке глаза и ретробульбарных сосудах [45].

Фиксированная комбинация бримонидин/тимолол (комбиган) обеспечивает сочетание β -блокатора тимолола, который уменьшает ВГД путем ингибирования производства ВГЖ и бримонидина - агониста α -адренорецепторов, который имеет двойной механизм действия: повышение увеосклерального оттока с

одновременным сокращением производства ВГЖ [175].

Другой фиксированной комбинацией является β -блокатор в сочетании с аналогами простагландинов, который доказал свою эффективность в управлении ВГД при рефрактерной глаукоме. Механизм действия аналогов простагландина является дополнением к механизмам снижения ВГД, осуществляемым β -блокаторами, – это комбинированные препараты латанопрост/тимолол (ксалоком) и травопрост/тимолол (дуотрав) [106; 116; 159].

У пациентов с рефрактерной глаукомой продемонстрирована значительно большая эффективность фиксированной комбинации биматопроста и тимолола, чем любого из его активных компонентов в отдельности. Таким образом, комбинированные препараты (например, сочетание β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы либо аналогами простагландинов, либо α -агонистами) могут быть использованы для удобства дозирования, предотвращения вымывания одного лекарства другим, уменьшения негативного воздействия консервантов [126; 144].

Несмотря на достижения в создании широкого спектра фармакологических вариантов местной гипотензивной терапии глаукомы [185], отказ от лечения является серьезной проблемой в связи с непереносимостью и недостаточной эффективностью препаратов [90; 135; 171; 201; 213].

В стадии клинических испытаний тестируют принципиально новые молекулы, в т.ч. ингибиторы Rho-ассоциированной протеинкиназы, которые взаимодействуют с цитоскелетом соединительнотканых клеток [236]. Применение ограничивается значительными местными побочными эффектами, такими как гиперемия и субконъюнктивальные кровоизлияния. Для преодоления побочных эффектов разрабатывают пролекарства, способные проникать через роговицу в переднюю камеру глаза, где они будут преобразованы в активные соединения [106; 243].

Агонисты рецепторов аденозина также могут увеличить отток ВГЖ и рассматриваются в качестве перспективных новых агентов, снижающих ВГД. Агонисты рецепторов аденозина индуцируют атрофию клеток трабекулярной сети и секрецию металлопротеаз, в результате чего ремоделируется внеклеточный

матрикс, и снижается сопротивление оттоку ВГЖ [106].

Анализ результатов медикаментозного лечения пациентов с ПОУГ перед первой операцией продемонстрировал отсутствие достоверных отличий на I и II стадиях, на III стадии – ответ на терапию β -блокаторами. Среди пациентов, оперированных повторно с достижением компенсации ВГД, не обнаружено значимого влияния определенной схемы лечения на поддержание ВГД в пределах целевых значений. Если этих пациентов проанализировать вместе с пациентами с рефрактерным течением ПОУГ, то статистические результаты практически не меняются. Анализ наблюдений с рефрактерной ПОУГ, как и следовало ожидать, не выявил существенного влияния медикаментозной терапии на снижение ВГД.

В целом, по данным гистологического изучения склеральных лоскутов и ультразвуковой визуализации послеоперационных дренажных путей, исследованы структурные основы фиброзирования фильтрационных подушек при рефрактерном течении ПОУГ в условиях применения местных гипотензивных препаратов различных групп и продемонстрированы ультраструктурные и иммуногистохимические маркеры ремоделирования соединительной ткани.

Клинико-морфологические маркеры повышенного риска рефрактерности глаукомы при глубокой склерэктомии включают в себя постоперационное формирование эхоплотных стенок интрасклеральной полости или ее редукцию, что сочетается с увеличением численной плотности матрикс-продуцирующих клеток и высокой экспрессией фибронектина в экстрацеллюлярном матриксе склеры, особенно при отсутствии местной медикаментозной терапии или применении аналогов простагландинов.

При этом клинико-морфологические маркеры благоприятного прогноза антиглаукомной операции основаны на постоперационном формировании гипозехогенных высоких фильтрационных подушек, высокой экспрессии CD34 эндотелиоцитами коллекторных канальцев склеры, а также сниженной плотностью волокон и основного вещества соединительной ткани, наиболее выраженных при использовании β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы.

ВЫВОДЫ

1. Ультраструктурная организация эндотелиальных клеток коллекторных канальцев в склеральных лоскутах впервые и повторно оперированных пациентов отражала баланс цитодеструкции и клеточной регенерации и не зависела от применяемой до антиглаукомной операции схемы местной гипотензивной терапии.

2. Биосинтетически активные матрикс-продуцирующие клетки склеры у впервые оперированных пациентов локализовались преимущественно вблизи элементов дренажной системы глаза. Волокна и основное вещество соединительной ткани при функционировании фильтрационных подушек характеризовались низкой электронной плотностью. При рефрактерном течении первичной открытоугольной глаукомы плоские фильтрационные подушки с редуцированной интрасклеральной полостью сочетались с более выраженной пролиферативной реакцией фибробластов, формирующих перивенулярные клеточные инфильтраты и гранулемы вдоль краев резекции.

3. При иммуногистохимическом изучении склеральных лоскутов наибольшая экспрессия биомаркера CD34 в эндотелиальных клетках коллекторных канальцев сочеталась с расширением их просветов и имела место при отсутствии медикаментозного лечения. При рефрактерном течении глаукомы относительно большее количество CD34-позитивных клеток выявлено при применении β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы и сочеталось с гипоехогенной и высокой фильтрационной подушкой.

4. Экстрацеллюлярная экспрессия фибронектина в образцах склеры повышена при увеличении числа матрикс-продуцирующих клеток, особенно при преобладании фибробластов. По данным системы автоматического анализа изображения, при рефрактерном течении глаукомы выявлена тенденция повышенной экспрессии фибронектина в образцах склеры при монотерапии аналогами простагландинов или β -блокаторами и сниженная – при применении β -блокаторов с ингибиторами карбоангидразы или с аналогами простагландинов.

5. Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства у

пациентов с рефрактерным течением глаукомы, по сравнению с наблюдениями с компенсируемым офтальмотонусом, продемонстрировала достоверно ($p \leq 0,01$) более низкие показатели высоты фильтрационной подушки и интрасклеральной полости; при стабильном течении глаукомы толерантный офтальмотонус отмечен при использовании β -блокаторов в сочетании с ингибиторами карбоангидразы.

6. Ретроспективный статистический анализ 1197 глаз пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, в том числе с рефрактерным течением, не выявил достоверного влияния местной гипотензивной терапии на достижение целевого ВГД при рассмотрении с учетом и без учета стадии глаукомы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно гистологически изучать склеральные лоскуты, резецированные в ходе антиглаукомных операций, что позволяет прогнозировать послеоперационное течение глаукомного процесса.

2. При назначении местной гипотензивной терапии пациентам с рефрактерным течением ПОУГ необходимо учитывать не только уровень ВГД, но и состояние послеоперационных путей оттока ВГЖ методом УБМ с акцентом на морфологии интрасклеральной полости и фильтрационной подушки.

3. В отдаленном послеоперационном периоде при декомпенсации уровня ВГД после 2-х и более антиглаукомных операций необходимо назначать пациентам комбинированные гипотензивные препараты, не содержащие аналоги простагландинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов, С. Э. Диагностические возможности ультразвуковой биомикроскопии в факохирургии / С. Э. Аветисов, А. Р. Амбарцумян, К. С. Аветисов // Вестник офтальмологии. – 2013. – № 5. – С. 32–42.
2. Авцын, А. П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А. П. Авцын, В. А. Шахламов. – М. : Медицина, 1979. – 320 с.
3. Активность процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантного потенциала слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / В. В. Черных [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2006. – № 1. – С. 129–130.
4. Алгоритм реабилитационных мероприятий на этапах формирования путей оттока после непроникающей глубокой склерэктомии / Т. Н. Юрьева [и др.] // Офтальмохирургия. – 2007. – № 4. – С. 67–71.
5. Александровская, О. В. Цитология, гистология и эмбриология / О. В. Александровская, Т. Н. Радостина, Н. А. Козлов. – М. : Агропромиздат, 1987. – 448 с.
6. Алексеев, В. Н. Прогрессирующая глаукома-неизбежность или недоработка? / В. Н. Алексеев // Глаукома. – 2012. – № 3. – С. 26–32.
7. Афанасьев, Ю. И. Гистология, цитология и эмбриология / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина. – М. : Медицина, 1999. – 744 с.
8. Банин, В. В. Эндотелий как метаболически активная ткань (синтетические и регуляторные функции) / В. В. Банин, Г. А. Алимов // Морфология. – 1992. – Т. 102, № 2. – С. 10–31.
9. Бессмертный, А. М. Факторы риска избыточного рубцевания у больных первичной открытоугольной глаукомой / А. М. Бессмертный // Глаукома. – 2006. – № 3. – С. 34–36.
10. Биохимические и структурно-биомеханические особенности матрикса склеры человека при первичной открытоугольной глаукоме / Е. Н. Иомдина [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2011. – № 6. – С. 10–14.

11. Бойко, Э. В. Молекулярно–генетические аспекты патогенеза глаукомы / Э. В. Бойко, С. В. Чурашов, Т. А. Камилова // Вестник офтальмологии. – 2013. – № 4. – С. 76–82.
12. Бородин, Ю. И. Лимфология как интегративная медико-биологическая наука / Ю. И. Бородин // Вестник лимфологии. – 2009. – № 4. – С. 6–9.
13. Быков, В. Л. Цитология и общая гистология : Функциональная морфология клеток и тканей человека / В. Л. Быков. – СПб. : Сотис, 2003. – 520 с.
14. Вайль, С. С. Практическое руководство по патолого-гистологической технике / С. С. Вайль. – Л., 1944. – 264 с.
15. Вит, В. В. Строение зрительной системы человека / В. В. Вит. – Одесса, 2003. – С. 170–220.
16. Влияние толщины роговицы на пневмотонометрические показатели внутриглазного давления / Л. И. Балашевич [и др.] // Офтальмохирургия. – 2005. – № 1. – С. 31–33.
17. Гансбургский, А. Н. Пролиферативные свойства клеточных дифференцированных сосудистой стенки / А. Н. Гансбургский, А. В. Павлов // Морфология. – 1998. – № 2. – С. 66–69.
18. Гипотензивная эффективность комбинированного патогенетически ориентированного хирургического лечения катаракты и первичной открытоугольной глаукомы / А. С. Введенский [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2013. – № 6. – С. 19–23.
19. Давыдовский, И. В. Общая патология человека / И. В. Давыдовский. – М. : Медицина, 1969. – 612 с.
20. Егоров, Е. А. Национальное руководство по глаукоме / Е. А. Егоров, Ю. С. Астахов, В. П. Еричева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 824 с.
21. Егоров, Е. А. Офтальмофармакология / Е. А. Егоров, Ю. С. Астахов, Т. В. Ставицкая. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 463 с.
22. Еременко, А. И. Оперированная некомпенсированная глаукома / А. И. Еременко, А. Н. Стеблюк // Российский офтальмологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 14–19.

23. Еричев, В. П. Рефрактерная глаукома: особенности лечения / В. П. Еричев // Вестник офтальмологии. – 2000. – Т. 116, № 5. – С. 8–10.
24. Еричев, В. П. Фиксированные лекарственные формы: современный подход к терапии глаукомы / В. П. Еричев, А. Е. Дугина, Ю. В. Мазурова // Глаукома. – 2010. – № 1. – С. 62–66.
25. Журавлева, А. Н. Изучение фибронектина склеры при первичной открытоугольной глаукоме (иммуногистохимическое исследование) / А. Н. Журавлева, В. В. Нероев, Л. Д. Андреева // Вестник офтальмологии. – 2009. – Т. 125, № 3. – С. 12–15.
26. Золотарев, А. В. О механизме действия фиксированной комбинации латанопроста и тимолола / А. В. Золотарев, Е. В. Карлова // Вопросы офтальмологии. – 2011. – № 2. – С. 71–75.
27. Иванова, О. В. Эндотелиальная дисфункция-важный этап развития атеросклеротического поражения сосудов / О. В. Иванова, Г. Н. Соболева, Ю. А. Карпов // Терапевтический архив. – 1997. – Т. 69, № 6. – С. 75–78.
28. Измайлова, С. Б. Хирургическое лечение основных форм рефрактерной глаукомы с использованием гидрогелевого дренажа в проникающей хирургии малых разрезов : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.08 / С. Б. Измайлова. – М., 2005. – 24 с.
29. Кактурский, Л. В. Сосуды // Воспаление : руководство для врачей / Л. В. Кактурский ; под ред. В. В. Серова, В. С. Паукова. – М. : Медицина, 1995. – С. 558–569.
30. Капуго, М. Биохимия старения / М. Капуго. – М. : Мир, 1982. – 296 с.
31. Кауфман, О. Я. Лаброциты, базофильные и эозинофильные гранулоциты / О. Я. Кауфман // Воспаление : руководство для врачей / под ред. В. В. Серова, В. С. Паукова. – М. : Медицина, 1995. – С. 137–151.
32. Клишов, А. А. Гистогенез и репарация тканей / А. А. Клишов. – Л. : Медицина, 1984. – 232 с.
33. Колокольчикова, Е. Г. Роль клеток стенки микрососудов в пролиферативных процессах соединительной ткани : автореф. дис. д-ра биол.

наук : 14.00.23 / Е. Г. Колокольчикова. – М., 1997. – 35 с.

34. Коненков, В. И. Лимфология / В. И. Коненков, Ю. И. Бородин, М. С. Любарский. – Новосибирск : Манускрипт, 2012. – 1179 с.

35. Кулешова О. Н. Анализ морфологических изменений юстаканаликулярной ткани и склеры по операционному материалу при первичной ювенильной и открытоугольной глаукоме / О. Н. Кулешова, Г. И. Непомнящих, С. В. Айдагулова // Офтальмохирургия. – 2008. – № 3. – С. 12–15.

36. Кумар, В. Применение металлического дренажа в хирургическом лечении рефрактерной глаукомы / В. Кумар, М. А. Фролов, И. Е. Маковецкая // Глаукома. – 2011. – № 4. – С. 39–43.

37. Куприянов, В. В. Микроциркуляторное русло / В. В. Куприянов, Я. Л. Караганов, В. И. Козлов. – М. : Медицина, 1975. – 216 с.

38. Куроедов, А. В. Микродренирование с помощью EX-PRESS мини-шунта как вариант выбора оперативного лечения пациентов с первичной открытоугольной глаукомой продвинутых стадий болезни / А. В. Куроедов, В. Ю. Огородникова // Офтальмология. – 2010. – № 1. – С. 23–28.

39. Куроедов, А. В. Состояние отдельных внутриглазных структур у больных глаукомой на фоне применения инстилляционных форм антиглаукомных препаратов / А. В. Куроедов, В. Ю. Огородникова // Глаукома. – 2010. – № 2. – С. 50–54.

40. Курышева, Н. И. Глаукомная оптическая нейропатия / Н. И. Курышева. – М. : МЕДпресс информ, 2006. – 136 с.

41. Лебедев, О. И. Концепция избыточного рубцевания тканей глаза после антиглаукоматозных операций / О. И. Лебедев // Вестник офтальмологии. – 1993. – № 1. – С. 36–39.

42. Лекарственно-индуцированное поражение печени: Универсальные структурные маркеры / В. Т. Ивашкин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии. – 2009. – Т. 19, № 2. – С. 20–29.

43. Либман, Е. С. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России / Е. С. Либман, Е. В. Шахова //

Актуальные вопросы офтальмологии. – 2007. – № 2. – С. 12–19.

44. Либман, Е. С. Эпидемиологическая характеристика глаукомы / Е. С. Либман // Глаукома (приложение). – 2009. – № 1. – С. 2–3.

45. Ловпаче, Д. Н. Гипотензивная эффективность, переносимость и безопасность препаратов Тимолола 0,5%, Дорзопта 2%, комбинации Тимолола 0,5% и Дорзопта 2% в лечении пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / Д. Н. Ловпаче, М. А. Аракелян, К. А. Рамазанова // Российский офтальмологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 40–43.

46. Лоскутов, И. А. Состоятельность фильтрационных подушек после длительного использования дорзоламида / И. А. Лоскутов // Глаукома. – 2011. – № 4. – С. 44–48.

47. Маянский, А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский. – Новосибирск : Наука, 1983. – 254 с.

48. Медикаментозная активация увеосклерального оттока внутриглазной жидкости при глаукоме: патогенетические аспекты / А. В. Золотарев [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2013. – № 4. – С. 83–87.

49. Медикаментозное лечение глаукомы [et al.] / R. N. Weinreb // 7-й Консенсус Всемирной глаукомной ассоциации; пер. с англ. П. А. Нечипоренко ; научн. ред. Ю. С. Астахов. – СПб., 2014. – 384 с.

50. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Медицина, 1969. – 423 с.

51. Микрорайон-маркер состояния лимфатического региона организма / Ю. И. Бородин [и др.] // Морфология. – 2006. – № 4. – С. 25.

52. Многофакторный статистический анализ в верификации предикторов и прогнозировании исхода фистулизирующих антиглаукоматозных операций (сообщение 3) / Н. В. Волкова [и др.] // Глаукома. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 111–118.

53. Насонов, Е. Л. Маркеры активации эндотелия (тромбомодулин, антиген фактора Виллебранда и ангиотензинпревращающий фермент) : клиническое значение / Е. Л. Насонов, А. А. Баранов, Н. П. Шилкина // Клиническая медицина. – 1998. – Т. 76, № 11. – С. 4–10.

54. Нестеров, А. П. Глаукома / А. П. Нестеров. – М. : МИА, 2008. – 357 с.
55. Нечаева, Г. И. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов / Г. И. Нечаева, И. А. Викторова. – Омск : БЛАНКОМ, 2007. – 188 с.
56. Николаенко, В. П. Применение политетрафторэтиленовых экспланто-дренажей в ходе гипотензивных операций. Часть I: техника и результаты / В. П. Николаенко, Ю. С. Астахов // Глаукома. – 2005. – № 2. – С. 31–35.
57. Омеляненко, Н. П. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) : в 2 т. Т. 2 / Н. П. Омеляненко, Л. И. Слуцкий ; под ред. С. П. Миронова. – М. : Известия, 2010. – 600 с.
58. Омеляненко, Н. П. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) : в 2 т. Т. 1 / Н. П. Омеляненко, Л. И. Слуцкий ; под ред. С. П. Миронова. – М. : Известия, 2009. – 380 с.
59. Особенности патогенеза начальной и развитой стадии первичной открытоугольной глаукомы / В. В. Черных [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2006. – № 1. – С. 28–31.
60. Офтальмология : национальное руководство / ред. С. Э. Аветисов [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 944 с. : ил.
61. Перспективы применения ультразвуковой биомикроскопии глаза в выборе тактики ведения больных после антиглаукомных операций / Л. Н. Зубарева [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2004. – № 13. – С. 48–51.
62. Петров, С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2000. – 288 с.
63. Петров, С. Ю. Консерванты в офтальмологических препаратах: от бензалкония хлорида к поликватернию / С. Ю. Петров, Д. М. Сафонова // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 97–107.
64. Печень и ее регионарные лимфоузлы при воздействии 3,4-бензпиреном / С. И. Колесников [и др.]. – Новосибирск, 1995. – 218 с.
65. Пугач, И. М. Выявление перицитоподобных клеток в субэндотелии

кровеносных сосудов человека / И. М. Пугач, Е. Р. Андреева, А. Н. Орехов // Архив патологии. – 1999. – Т. 61, вып. 4. – С. 18–21.

66. Рациональная фармакотерапия в офтальмологии / Е. А. Егоров [и др.]. – М. : Литтерра, 2004. – 954 с.

67. Руководство по гистологии. в 2 т. : учебное пособие / ред. Р. К. Данилов. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб. : СпецЛит, 2011. – 512 с.

68. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

69. Саркисов, Д. С. Очерки истории общей патологии / Д. С. Саркисов. – М. : Медицина, 1993. – 512 с.

70. Серов, В. В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В. В. Серов, А. Б. Шехтер. – М. : Медицина, 1981. – 312 с.

71. Современные возможности клеточных технологий в конструировании биологического эквивалента искусственной роговицы / Б. Э. Малюгин [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – № 5. – С. 43–47.

72. Состояние структур переднего отдела глаза после лазерной циклокоагуляции у больных с терминальной глаукомой по данным ультразвуковой биомикроскопии / А. Р. Амбарцумян [и др.] // Офтальмологический журнал Казахстана. – 2011. – № 4 (38). – С. 9–11.

73. Тактика и результаты лечения пациентов с декомпенсацией ВГД после антиглаукоматозных фильтрующих операций при блокаде путей оттока на склеральном уровне / Х. П. Тахчиди [и др.] // Глаукома. – 2005. – № 3. – С. 42–47.

74. Уикли, Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – М. : Мир, 1975. – 324 с.

75. Ультраструктура эндотелия дренажной системы глаза / О. Н. Кулешова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2008. – Т. 145, № 5. – С. 574–577.

76. Федоров, А. А. Морфологические основы научных исследований в офтальмологии / А. А. Федоров // Вестн офтальмологии. – 2013. – № 5. – С. 10–21.

77. Файзрахманов, Р. Р. Индивидуальная зависимость внутриглазного

давления оттолщины роговицы в норме / Р. Р. Файзрахманов, Н. А. Собянин, В. В. Волков // Глаукома. – 2011. – № 3. – С. 3–6.

78. Хирургическое лечение «рефрактерной» глаукомы / Ю. С. Астахов [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2006. – Т. 7, № 1. – С. 25–27.

79. Ходжаев, Н. С. Особенности иммуно-биохимических изменений у больных с ПОУГ на фоне монотерапии аналогом простагландина F2a Глаупростом / Н. С. Ходжаев, В. В. Черных, А. Н. Трунов // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2013. – Т. 13, № 2. Приложение. – С. 1–4.

80. Хорошилова-Маслова, И. П. Изучение коллагенового профиля в новообразованной соединительной ткани в посттравматических глазах / И. П. Хорошилова-Маслова, Л. Д. Андреева // Офтальмологический журнал. – 1997. – № 2. – С. 115–119.

81. Хэм, А. Гистология : в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак. – М. : Мир, 1983.

82. Ченцов, Ю. В. Введение в клеточную биологию / Ю. В. Ченцов. – М. : ИКЦ «Академкнига», 2005. – 495 с.

83. Чернух, А. М. Микроциркуляция / А. М. Чернух, П. Н. Александров, О. В. Алексеев. – М. : Медицина, 1984. – 426 с.

84. Шахламов, В. А. Капилляры / В. А. Шахламов. – М. : Медицина, 1971. – 200 с.

85. Шмырева, В. Ф. Причины снижения отдаленной гипотензивной эффективности антиглаукомных операций и возможности ее повышения / В. Ф. Шмырева, С. Ю. Петров, А. С. Макарова // Глаукома. – 2010. – № 2. – С. 43–49.

86. Щуко, А. Г. Ультразвуковая диагностика в офтальмологии / А. Г. Щуко, С. И. Жукова, Т. Н. Юрьева. – М. : Офтальмология, 2013. – 128 с.

87. A randomized phase II trial of interferon-alpha2b versus 5-fluorouracil after trabeculectomy / M. C. Gillies [et al.] // Aust. New Zeal. J. Ophthalmol. – 1999. – Vol. 27, № 1. – P. 37–44.

88. Ability of Dorzolamide Hydrochloride and Timolol Maleate to Target Mitochondria in Glaucoma Therapy / S. C. Sacca [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2011. –

Vol. 129, № 1. – P. 48–55.

89. Acott, T. S. Extracellular matrix in the trabecular meshwork / T. S. Acott, M. J. Kelley // *Exp. Eye Res.* – 2008. – Vol. 86. – P. 543–561.

90. Actis, A. G. Ocular surface alterations and topical antiglaucomatous therapy: a review / A. G. Actis, T. Rolle // *Open Ophthalmol. J.* – 2014. – Vol. 3, № 8. – P. 67–72.

91. ADAMTSL4, a secreted glycoprotein widely distributed in the eye, binds fibrillin-1 microfibrils and accelerates microfibril biogenesis / L. A. Gabriel [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2012. – Vol. 53, № 1. – P. 461–469.

92. Adjuvant 5-fluorouracil and heparin prevents proliferative vitreoretinopathy: Results from a randomized, double-blind, controlled clinical trial / R. H. Asaria [et al.] // *Ophthalmology.* – 2001. – Vol. 108. – P. 1179–1183.

93. All-trans retinoic acid modulates mitogen-activated protein kinase pathway activation in human scleral fibroblasts through retinoic acid receptor beta / L. Huo [et al.] // *Mol. Vis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 1795–1803.

94. Altered TGF- β 2 and bFGF expression in scleral desmocytes from an experimentally-induced myopia guinea pig model / B. Y. Chen [et al.] // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 251, № 4. – P. 1133–1144.

95. Ammar, D. A. Effects of benzalkonium chloride-preserved, polyquad-preserved, and sofZia-preserved topical glaucoma medications on human ocular epithelial cells / D. A. Ammar, R. J. Noecker, M. Y. Kahook // *Adv. Ther.* – 2010. – Vol. 27, № 11. – P. 837–845.

96. An ultrasound biomicroscopy study after deep sclerectomy with supraciliary implant / J. Loscos [et al.] // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* – 2014. – Vol. 89, № 11. – P. 39–446.

97. An ultrasound biomicroscopy study of filtering blebs after deep sclerectomy with a new acrylic implant / L. Cabrejas [et al.] // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 21, № 4. – P. 391–399.

98. Anatomic changes in Schlemm's canal and collector channels in normal and primary open-angle glaucoma eyes using low and high perfusion pressures / C. R. Hann

[et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol. 55, № 9. – P. 5834–5841.

99. Anterior segment optical coherence tomography imaging of conjunctival filtering blebs after glaucoma surgery / R. Mastropasqua [et al.] // Biomed Res. Int. – 2014. – P. 610–623.

100. Anti-Transforming Growth Factor-b2 antibody : a new postoperative anti-scarring agent in glaucoma surgery / Mead A. L. [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2003. – Vol. 44. – P. 3394–3401.

101. Anwar, Z. Glaucoma therapy and ocular surface disease: current literature and recommendations / Z. Anwar, S. R. Wellik, A. Galor // Curr. Opin. Ophthalmol. – 2013. – Vol. 24, № 2. – P. 136–143.

102. Apoptosis gene expression and death receptor signaling in mitomycin-C-treated human Tenon capsule fibroblasts / J. G. Crowston [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2002. – Vol. 43. – P. 692–699.

103. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar / A. Desmouliere [et al.] // Am. J. Pathol. – 1995. – Vol. 146. – P. 56–66.

104. Aqueous outflow: segmental and distal flow / S. S. Swaminathan [et al.] // J. Cataract. Refract. Surg. – 2014. – Vol. 40, № 8. – P. 263–272.

105. Bailey, A. K. Ab interno approach to Schlemm canal: ab interno trabecular ablative procedures / A. K. Bailey, S. D. Vold, S. R. Sarkisian // J. Cataract. Refract. Surg. – 2014. – Vol. 40, № 8. – P. 1281–1284.

106. Bettin, P. Glaucoma : present challenges and future trends / P. Bettin, F. Di Matteo // Ophthalmic Res. – 2013. – Vol. 50, № 4. – P. 197–208.

107. Biomarkers in primary open angle glaucoma / H. Kokotas [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. – 2012. – Vol. 50, № 12. – P. 2107–2119.

108. Biomechanics of Schlemm's canal endothelium and intraocular pressure reduction / W. D. Stamer [et al.] // Prog. Retin. Eye. Res. – 2015. – Vol. 44C. – P. 86–98.

109. Bishop, P. Type VI collagen present in human and bovine vitreous / P. Bishop, S. Ayad, A. Reardon // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1996. –

Vol. 234. – P. 710–713.

110. Bleb morphology and histology in a rabbit model of glaucoma filtration surgery using Ozurdex or mitomycin-C / J. R. SooHoo [et al.] // *Mol. Vis.* – 2012. – Vol. 18. – P. 714–709.

111. Bleb morphology characteristics and effect on positional intraocular pressure variation / J. S. Weizer [et al.] // *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging.* – 2010. – Vol. 41, № 5. – P. 532–537.

112. Brandão, L. M. Update on Minimally Invasive Glaucoma Surgery (MIGS) and New Implants / L. M. Brandão, M. C. Grieshaber // *J. Ophthalmol.* – 2013. – P. 705–715.

113. cAMP level modulates scleral collagen remodeling, a critical step in the development of myopia / Y. Tao [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. 714–741.

114. Casson, R. Long term results and complications of trabeculectomy augmented with low dose mitomycin C in patients at risk for filtration failure / R. Casson, R. Rahman, J. F. Salmon // *Br. J. Ophthalmol.* – 2001. – Vol. 85, № 6. – P. 686–688.

115. Cellular fibronectin expression in human trabecular meshwork and induction by transforming growth factor- β 2 / W. E. Medina-Ortiz // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, № 10. – P. 6779–6788.

116. Chen, J. Novel ocular antihypertensive compounds in clinical trials / J. Chen, S. A. Runyan, M. R. Robinson // *Clin. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 5. – P. 667–677.

117. Chen, L. Comparison of anterior chamber depth measured by anterior segment optical coherence tomography and ultrasound biomicroscopy: a meta-analysis / L. Chen, K. Xiong, J. Wu // *Nan Fang Yi Ke.* – 2013. – Vol. 33, № 10. – P. 1533–1537.

118. CO₂ laser-assisted sclerectomy surgery part I : concept and experimental models / Y. Ton [et al.] // *J. Glaucoma.* – 2012. – Vol. 21, № 2. – P. 135–140.

119. Colocalization of outflow segmentation and pores along the inner wall of

Schlemm's canal / S. T. Braakman [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2014. – Vol. 130. – P. 87–96.

120. Combined cyclectomy-trabeculectomy procedure for refractory glaucoma / G. Engin [et al.] // *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging.* – 2004. – Vol. 35, № 6. – P. 507–511.

121. Comparison of the Ahmed glaucoma valve, the Krupin eye valve with disc and the double-plate Molteno implant / D. P. Taglia [et al.] // *Glaucoma.* – 2002. – Vol. 11, № 4. – P. 347–353.

122. Comparison of the in vitro tolerance and in vivo efficacy of traditional timolol maleate eye drops versus new formulations with bioadhesive polymers / V. Andrés-Guerrero [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52, № 6. – P. 3548–3556.

123. Concentration-related effects of nitric oxide and endothelin-1 on human trabecular meshwork cell contractility / W. M. Dismuke [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2014. – Vol. 120. – P. 28–35.

124. Connective tissue structure of the tree shrew optic nerve and associated ageing changes / J. Albon [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48, № 5. – P. 2134–2144.

125. Correlation between the early morphological appearance of filtering blebs and outcome of trabeculectomy with mitomycin C / S. Sacu [et al.] // *J. Glaucoma.* – 2003. – Vol. 12, № 5. – P. 430–435.

126. Current and emerging medical therapies in the treatment of glaucoma / A. Bagnis [et al.] // *Expert. Opin. Emerg. Drugs.* – 2011. – Vol. 16, № 2. – P. 293–307.

127. Cvenkel, B. Correlation between filtering bleb morphology, expression of inflammatory marker HLA-DR by ocular surface, and outcome of trabeculectomy / B. Cvenkel, A. N. Kopitar, A. Ihan // *J. Glaucoma.* – 2013. – Vol. 22, № 1. – P. 15–20.

128. Davis, E. C. Intracellular trafficking of tropoelastin / E. C. Davis, R. P. Mecham // *Matrix Biol.* – 1998. – Vol. 17. – P. 245–254.

129. Deep sclerectomy in refractory uveitic glaucoma / C. Auer [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2002. – Vol. 43. – P. 33–36.

130. DeMali, K. A. Integrin signaling to the actin cytoskeleton / K. A. DeMali, K. Wennerberg, K. Burridge // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 2003. – Vol. 15. – P. 572–582.
131. Dietlein, T. S. The medical and surgical treatment of glaucoma / T. S. Dietlein, M. M. Hermann, J. F. Jordan // *Dtsch. Arztebl. Int.* – 2009. – Vol. 106, № 37. – P. 597–605.
132. Different fibroblast subpopulations of the eye: a therapeutic target to prevent postoperative fibrosis in glaucoma therapy / T. Stahnke [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2012. – Vol. 100. – P. 88–97.
133. Distribution of bone morphogenetic protein receptors in human scleral fibroblasts cultured in vitro and human sclera / Z. Y. Gao [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 5, № 6. – P. 661–666.
134. Dreer, L. E. Determinants of medication adherence to topical glaucoma therapy / L. E. Dreer, C. Girkin., S. L. Mansberger // *J. Glaucoma.* – 2012. – Vol. 21, № 4. – P. 234–240.
135. Effect of conjunctival structure and inflammatory cell counts on intraocular pressure after trabeculectomy / M. K. Arici [et al.] // *Ophthalmologica.* – 1999. – Vol. 213. – P. 371–375.
136. Effects of a Schlemm canal scaffold on collector channel ostia in human anterior segments / M. A. Johnstone [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2014. – Vol. 119. – P. 70–76.
137. Effects of antimetabolite induced cellular growth arrest on fibroblast–fibroblast interactions / J. T. Daniels [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 1999. – Vol. 69. – P. 117–127.
138. Endoscopic photocoagulation of the ciliary body for treatment of refractory glaucomas / J. Chen [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 1997. – Vol. 124, № 6. – P. 787–796.
139. Endothelial glycocalyx layer in the aqueous outflow pathway of bovine and human eyes / C. Y. Yang [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2014. – Vol. 128. – P. 27–33.
140. Evaluation of bleb characteristics after implantation of the EX-PRESS™ glaucoma filtration device / Laing A. E. [et al.] // *Mol. Vis.* – 2012. – Vol. 18. – P. 10–

13.

141. Evaluation of conjunctival epithelium of filtering blebs by impression cytology / M. J. Muniesa [et al.] // Arch. Soc. Esp. Oftalmol. – 2014. – Vol. 89, № 6. – P. 216–221.

142. Evaluation of filtering blebs using the 'Wuerzburg bleb classification score' compared to clinical findings [Electronic resource] / S. Furrer // BMC Ophthalmol. – 2012. – Режим доступа : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22805056>. – Загл. с экрана.

143. Expression of prostaglandin F receptor in scleral and subconjunctival tissue / K. Imai [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2012. – Vol. 96, № 8. – P. 1148–1149.

144. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment : the early manifest glaucoma trial / M. C. Leske [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 121. – P. 48–56.

145. Filtering bleb structure associated with long-term intraocular pressure control after amniotic membrane-assisted trabeculectomy / M. Nakamura [et al.] // Curr. Eye Res. – 2012. – Vol. 37, № 3. – P. 239–250.

146. Filtering Blebs Using 3-Dimensional Anterior-Segment Optical Coherence Tomography : A Prospective Investigation / S. Kojima [et al.] // JAMA Ophthalmol. – 2014. – № 6. – P. 6.

147. Friedlander M. Advances in treatment and management: immunologic and cell-based regenerative therapies / M. Friedlander // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2012. – Vol. 53, № 5. – P. 2511–2514.

148. Functional Properties of Fibronectin in the Trabecular Meshwork / J. A. Faralli [et al.] // Exp. Eye Res. – 2009. – Vol. 88, № 4. – P. 689–693.

149. Gene and protein expression changes in human trabecular meshwork cells treated with transforming growth factor-beta / X. Zhao [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2004. – Vol. 45, № 11. – P. 4023–4034.

150. Gessesse, G. W. Advanced glaucoma : management pearl / G. W. Gessesse, K. F. Damji // Middle East Afr. J. Ophthalmol. – 2013. – Vol. 20, № 2. – P. 131–141.

151. Glaucoma surgery with or without adjunctive antiproliferatives in normal tension glaucoma : 1 intraocular pressure control and complications / W. L. Membrey [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2000. – Vol. 84. – P. 586–590.
152. Glaucoma surgery with or without adjunctive antiproliferatives in normal tension glaucoma : 2. Visual field progression / W. L. Membrey [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2001. – Vol. 85, № 6. – P. 696–701.
153. Golez, E. The use of anterior segment imaging after trabeculectomy / E. Golez, M. Latina // Semin Ophthalmol. – 2012. – Vol. 27, № 5–6. – P. 155–159.
154. Green, J. A. Three-dimensional microenvironments modulate fibroblast signaling responses / J. A. Green, K. M. Yamada // Adv. Drug. Deliv. Rev. – 2007. – Vol. 59, № 13. – P. 1293–1298.
155. Grieshaber, M. S. Glaucoma Therapy / M. S. Grieshaber, S. Orgul, J. Flammer. – 2009. – 178 p.
156. Grinnell, F. Fibroblast mechanics in three dimensional collagen matrices / F. Grinnell // J. Bod. Mov. Ther. – 2008. – Vol. 12, № 3. – P. 191–193.
157. Hedman, K. Pooled-data analysis of three randomized, double-masked, six-month studies comparing intraocular pressure-reducing effects of latanoprost and timolol in patients with ocular hypertension / K. Hedman, A. Alm, R. L. Gross // J. Glaucoma. – 2003. – Vol. 12. – P. 463–465.
158. Human antitransforming growth factor beta(2) monoclonal antibody-a new modulator of wound healing in trabeculectomy: a randomized placebo controlled clinical study / D. Siriwardena [et al.] // Ophthalmology. – 2002. – Vol. 109. – P. 427–431.
159. Hypotensive effect of latanoprost/timolol versus travoprost/timolol fixed combinations in NTG patients: a randomized, multicenter, crossover clinical trial / T. Shoji [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2013. – Vol. 54, № 9. – P. 6242–6247.
160. Improvement in outflow facility by two novel microinvasive glaucoma surgery implants / C. L. Hays [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 1893–1900.
161. In vivo confocal microscopy and ultrasound biomicroscopy study of

filtering blebs after trabeculectomy : limbus-based versus fornix-based conjunctival flaps / K. Morita [et al.] // J. Glaucoma. – 2012. – Vol. 21, № 6. – P. 383–391.

162. Influence of race and age on aqueous humor levels of transforming growth factor-beta 2 in glaucomatous eyes / R. H. Trivedi [et al.] // J. Ocular Pharm. Therap. – 2011. – Vol. 27. – P. 477–480.

163. Involvement of platelet coagulation and inflammation in the endothelium of Schlemm's canal / Y. Watanabe [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2010. – Vol. 51, № 1. – P. 277–283.

164. Jay, J. L. The benefit of early trabeculectomy versus conventional management in primary open angle glaucoma relative to severity of disease / J. L. Jay, D. Allan // Eye. – 1992. – Vol. 3. – P. 528–535.

165. Jeong, H. Augmentation of filtering blebs with viscoelastics in trabeculectomy / H. Jeong, K. R. Sung // Korean J. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 28, № 5. – P. 393–398.

166. Johansson, A. Remodeling of tumor stroma and response to therapy / A. Johansson, R. Ganss // Cancers (Basel). – 2012. – Vol. 4, № 2. – P. 340–353.

167. Khaw, P. T. Antifibrotic agents in glaucoma surgery / P. T. Khaw, LP. Y. Chang // Duker D., Yanoff M. Ophthalmology-A : practical textbook. – London : Churchill Livingstone, 2003. – P. 1596–1603.

168. Kim, C. One Year of Glaucoma Research in Review : 2012 to 2013 / C. Kim, A. M. Demetriades, N. M. Radcliffe // Asia Pac. J. Ophthalmol. (Phila). – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 48–55.

169. Kobayashi, H. Efficacy of single glaucoma drug in combined timolol XE, latanoprost and brinzolamide therapy : a discontinuation study / H. Kobayashi // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2012. – Vol. 28, № 3. – P. 245–250.

170. Lama, P. J. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery / P. J. Lama, R. D. Fechtner // Surv. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 48. – P. 314–346.

171. Lavik, E. Novel drug delivery systems for glaucoma / E. Lavik, M. H. Kuehn, Y. H. Kwon // Eye (Lond). – 2011. – Vol. 25. – P. 578–586.

172. Long-term effect of latanoprost/timolol fixed combination in patients with

glaucoma or ocular hypertension: a prospective, observational, noninterventional study / O. Schwenn [et al.] // BMC Ophthalmol. – 2010. – Vol. 10. – P. 21–23.

173. Long-term functional outcome after early surgery compared with laser and medicine in open angle glaucoma / C. Migdal [et al.] // Ophthalmology. – 1994. – Vol. 101. – P. 1651–1657.

174. Long-term success of ahmed glaucoma valve in refractory glaucoma / M. Kaya [et al.] // Int. J. Ophthalmol. – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 108–112.

175. Managing refractory glaucoma with a fixed combination of bimatoprost (0.03%) and timolol (0.5%) / M. E. Gheith [et al.] // Clin. Ophthalmol. – 2008. – Vol. 2, № 1. – P. 15–20.

176. Matrix metalloproteinase inhibition modulates fibroblast-mediated matrix contraction and collagen production in vitro / J. T. Daniels [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2003. – Vol. 44. – P. 1104–1110.

177. Mayne, R. Fibrillin-1 is the major protein present in bovine zonular fibrils / R. Mayne, P. R. Mayne, J. R. Baker // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1997. – Vol. 38. – P. 1399–1411.

178. Mechanoregulation of gene expression in fibroblasts / J. H. Wang [et al.] // Gene. – 2007. – Vol. 391, № 1–2. – P. 1–15.

179. Merwe van der, E. L. The three-dimensional organisation of the post-trabecular aqueous outflow pathway and limbal vasculature in the mouse / E. L. Merwe van der, S. H. Kidson // Exp. Eye Res. – 2014. – Vol. 125. – P. 226–235.

180. Mietz, H. Suramin to enhance glaucoma filtering procedures: a clinical comparison with mitomycin / H. Mietz, G. K. Krieglstein // Ophthalmic Surg. Lasers. – 2001. – Vol. 32. – P. 358–369.

181. Morphologic classification of filtering blebs after glaucoma filtration surgery : the Indiana Bleb Appearance Grading Scale / L. B. Cantor [et al.] // J. Glaucoma. – 2003. – Vol. 12, № 3. – P. 266–271.

182. Morphopathological changes in glaucoma-induced trabecular meshwork / D. Petraru [et al.] // Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2011. – Vol. 115, № 3. – P. 94–98.

183. Muñoz, V. Fibroblasts: modulating the rhythm of the heart / V. Muñoz, K. Campbell, J. Shibayama // *J. Physiol.* – 2008. – Vol. 586. – P. 2423–2424.
184. Neves, M. C. R. Ocular surface changes in eyes with glaucoma filtering blebs / M. C. R. Neves, R. Y. Hida, N. Kasahara // *Curr. Eye Res.* – 2012. – Vol. 37, № 4. – P. 309–311.
185. New therapeutic targets for intraocular pressure lowering / A. Rocha-Sousa [et al.] // *ISRN Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 16. – P. 261–386.
186. New trends in glaucoma risk, diagnosis & management Indian / T. Kersey [et al.] // *J. Med. Res.* – 2013. – Vol. 137, № 4. – P. 659–668.
187. Noecker, R. J. Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications / R. J. Noecker, L. A. Herrygers, R. Anwaruddin // *Cornea.* – 2004. – Vol. 23, № 5. – P. 490–496.
188. Ocular fibroblast types differ in their mRNA profiles-implications for fibrosis prevention after aqueous shunt implantation / M. Löbner [et al.] // *Mol. Vis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 1321–1331.
189. Ologen implant versus mitomycin C for trabeculectomy : a systematic review and meta-analysis / M. He [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. 857–882.
190. Otago Glaucoma Surgery Outcome Study: cytology and immunohistochemistry of trabeculectomy blebs / A. C. Molteno [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, № 7. – P. 4991–4999.
191. Overexpression of CDKN1B inhibits fibroblast proliferation in a rabbit model of experimental glaucoma filtration surgery / J. G. Yang [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, № 1. – P. 343–352.
192. Palvin, C. J. Ultrasound biomicroscopy of the eye / C. J. Palvin, F. Foster. – NY : Springer-Verlar, 1998. – 214 p.
193. Parc, C. E. Giant vacuoles are found preferentially near collector channels / C. E. Parc, D. H. Johnson, H. S. Brilakis // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2000. – Vol. 41, № 10. – P. 2984–2990.
194. Patient satisfaction with topical ocular hypotensives / N. M. Kerr [et al.] //

Clin. Experiment. Ophthalmol. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 27–35.

195. Pfeiffer N. Update on the medical therapy / N. Pfeiffer // Glaucoma therapy. – 2009. – P. 29–33.

196. Pirouzian, A. Critical appraisal of loteprednol ointment, gel, and suspension in the treatment of postoperative inflammation and pain following ocular and corneal transplant surgery / A. Pirouzian, E. R. Craven // Clin. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 10, № 8. – P. 379–387.

197. Pozarowska, D. Safety and tolerability of tafluprost in treatment of elevated intraocular pressure in open-angle glaucoma and ocular hypertension / D. Pozarowska // Clin. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 4. – P. 1229–1236.

198. Prevention of ocular scarring after glaucoma filtering surgery using the monoclonal antibody LT1009 (Sonepcizumab) in a rabbit model / Z. L. Lukowski [et al.] // J. Glaucoma. 2013. – Vol. 22, № 2. – P. 145–151.

199. Prospective evaluation of extraocular motility following double-plate Molteno implantation / A. A. Dobler-Dixon [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 1999. – Vol. 117, № 9. – P. 1155–1160.

200. Ramirez, F. The fibrillins / F. Ramirez, L. Pereira // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 1999. – Vol. 31. – P. 255–259.

201. Reardon, G. Objective assessment of compliance and persistence among patients treated for glaucoma and ocular hypertension: a systematic review / G. Reardon, S. Kotak, G. F. Schwartz // Patient. Prefer. Adherence. – 2011. – Vol. 5. – P. 441–463.

202. Reardon, G. Persistence on prostaglandin ocular hypotensive therapy: an assessment using medication possession and days covered on therapy / G. Reardon, G. F. Schwartz, S. Kotak // BMC Ophthalmol. – 2010. – Vol. 10. – P. 5.

203. Reduced in vivo ocular surface toxicity with polyquad-preserved travoprost versus benzalkonium-preserved travoprost or latanoprost ophthalmic solutions / H. Liang [et al.] // Ophthalmic Res. – 2012. – Vol. 48, № 2. – P. 89–101.

204. Regulation of scleral fibroblast differentiation by bone morphogenetic protein-2 / H. H. Li [et al.] // Int. J. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 152–156.

205. Role of matrix metalloproteinases and their inhibition in cutaneous wound healing and allergic contact hypersensitivity / B. K. Pilcher [et al.] // *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 878. – P. 12–24.
206. Rosbach, J. Thieme H Clinical results of encapsulated bleb removal after Ahmed glaucoma valve implants / J. Rosbach, L. Choritz, N. Pfeiffer // *Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 110, № 8. – P. 722–727.
207. Rosin, L. M. Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0,5% timolol eye drops / L. M. Rosin, N. P. Bell // *Clin. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 7. – P. 2131–2135.
208. Sałaga-Pylak, M. Deterioration of filtering bleb morphology and function after phacoemulsification / M. Sałaga-Pylak, M. Kowal, T. Zarnowski // *BMC Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 17.
209. Salim, S. Anterior segment imaging in glaucoma / S. Salim, S. Dorairaj // *Semin Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 28, № 3. – P. 113–125.
210. Scanning electron microscopy of the trabecular meshwork: Understanding the pathogenesis of primary angle closure glaucoma / R. Sihota [et al.] // *Indian J Ophthalmol.* 2012. – Vol. 60, № 3. – P. 183–188.
211. Schlemm's canal endothelia, lymphatic, or blood vasculature? / R. Renata [et al.] // *J. Glaucoma.* – 2007. – Vol. 16. – P. 391–405.
212. Schlemm's canal expands after trabeculectomy in patients with primary angle-closure glaucoma / J. Hong [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55, № 9. – P. 5637–5642.
213. Schwartz, G. F. Evaluation of eye drop administration technique in patients with glaucoma or ocular hypertension / G. F. Schwartz, D. A. Hollander, J. M. Williams // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2013. – Vol. 29, № 11. – P. 1515–1522.
214. Schwartz, G. F. Hyperemia-associated costs of medication changes in glaucoma patients treated initially with prostaglandin analogs / G. F. Schwartz, J. an, S. Kotak // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol. 25, № 6. – P. 555–561.
215. Selective Laser Trabeculoplasty Versus Medical Therapy as Initial Treatment of Glaucoma : A Prospective, Randomized Trial / L. J. Katz [et al.] //

J. Glaucoma. – 2012. – Vol. 21, № 7. – P. 460–468.

216. Simultaneous subconjunctival and subscleral mitomycin C application in trabeculectomy / F. El Sayyad [et al.] // Ophthalmology. – 2000. – Vol. 107. – P 298–301.

217. Systematic overview of the efficacy of nonpenetrating glaucoma surgery in the treatment of open angle glaucoma / J. W. Cheng [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2011. – Vol. 17, № 7. – P 155–163.

218. Tamm, E. R. The trabecular meshwork outflow pathways : structural and functional aspects / E. R. Tamm // Exp. Eye Res. – 2009. – Vol. 88. – P. 648–655.

219. Tektas, O. Y. Structural changes of the trabecular meshwork. In different kinds of glaucoma / O. Y. Tektas, E. Lutjen-Drecoll // Exp. Eye Res. – 2009. – Vol. 88. – P. 769–775.

220. TGF- α , β 2 and β 3 in vitro : biphasic effects on Tenon's fibroblast contraction, proliferation and migration / M. F. Cordeiro [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2000. – Vol. 41, № 3. – P. 756–763.

221. The crucial role of collagen-binding integrins in maintaining the mechanical properties of human scleral fibroblasts-seeded collagen matrix / S. Hu [et al.] // Mol. Vis. – 2011. – Vol. 17. – P. 1334–1342.

222. The effect of integrin antibodies on the attachment and proliferation of human Tenon's capsule fibroblasts / D. Paikal [et al.] // Exp. Eye Res. – 2000. – Vol. 70. – P. 393–400.

223. The effect of phacoemulsification on late bleb failure or intraocular pressure in patients with glaucoma: a systematic review / V. G. Peponis [et al.] // Clin. Ophthalmol. – 2012. – Vol. 6. – P. 1045–1049.

224. The impact of ocular adverse effects in patients treated with topical prostaglandin analogs: changes in prescription patterns and patient persistence / T. J. Zimmerman [et al.] // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 145–152.

225. The National Survey of Trabeculectomy. III. Early and late complications / B. Edmunds [et al.] // Eye. – 2002. – Vol. 16, № 3. – P. 297–303.

226. The prognostic value of the wuerzburg bleb classification score for the outcome of trabeculectomy / T. Klink [et al.] // *Ophthalmologica*. – 2011. – Vol. 225, № 1. – P. 55–60.
227. The role of lumican in ocular disease / S. Amjadi [et al.] // *ISRN Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 24. – P. 632; 302.
228. The role of matricellular proteins in glaucoma / D. M. Wallace [et al.] // *Matrix Biol.* – 2014. – Vol. 37. – P. 174–182.
229. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery / L. Chang [et al.] // *Surv. Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 45. – P. 49–68.
230. Trabeculectomy with combined use of subconjunctival collagen implant and low-dose mitomycin C / T. Dada [et al.] // *J. Glaucoma*. – 2013. – Vol. 22, № . – P. 659–662.
231. Trabeculectomy with versus without releasable sutures for glaucoma: a meta-analysis of randomized controlled trials / M. Zhou [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 14. – P. 14–41.
232. Tsai, J. C. Current and emerging medical therapies for glaucoma / J. C. Tsai, E. M. Kanner // *Expert. Opin. Emerg. Drugs*. – 2005. – Vol. 10. – P. 109–118.
233. Ultrasound biomicroscopy in deep sclerectomy / H. A. Khairy [et al.] // *Eye (Lond)*. – 2005. – Vol. 19, № 5. – P. 555–560.
234. Ultrasound biomicroscopy long-term study of filtering belbs / S. Premy [et al.] // *J. Fr. Ophtalmol.* – 2014. – Vol. 37, №. 5. – P. 400–406.
235. Wang, J. W. Differential effects of prostaglandin E2-sensitive receptors on contractility of human ocular cells that regulate conventional outflow / J. W. Wang, D. F. Woodward, W. D. Stamer // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, № 7. – P. 4782–4790.
236. Wang, S. K. An emerging treatment option for glaucoma: rho kinase inhibitors / S. K. Wang, R. T. Chang // *Clin. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 9. – № 8. – P. 883–890.
237. Watson, P. G. Scleral structure, organisation and disease : a review/

P. G. Watson, R. D. Young // *Exp. Eye Res.* – 2004. – Vol.78, № 3. – P. 609–623.

238. Weinreb, R. N. Glaucoma diagnosis. Structure and function / R. N. Weinreb, E. L. Greve // *Consensus Series.* – 1 th ed. – 2004. – 159 p.

239. Weinreb, R. N. Glaucoma surgery. Open angle glaucoma / R. N. Weinreb, J. G. Crowston // *Consensus Series.* – 2 th ed. – 2005. – 134 p.

240. Wells, A. P. In vivo fluorescence mode confocal microscopy of subepithelial tissues in glaucoma filtering blebs / A. P. Wells, L. Wakely, W. Birchall // *Ophthalm. Surg. Lasers Imaging.* – 2010. – Vol. 41, № 1. – P. 78–82.

241. Wheatley, H. M. Immunohistochemical localization of fibrillin in human ocular tissues / H. M. Wheatley, E. I. Traboulsi, B. E. Flowers // *Arch. Ophthalmol.* – 1995. – Vol. 113. – P. 103–109.

242. Wong, T. T. Matrix metalloproteinase inhibition modulates postoperative scarring after experimental glaucoma filtration surgery / T. T. Wong, A. L. Mead, P. T. Khaw // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2003. – Vol. 44. – P. 1097–1103.

243. Zhang, K. Ophthalmic drug discovery: novel targets and mechanisms for retinal diseases and glaucoma / K. Zhang, L. Zhang, R. N. Weinreb // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2012. – Vol. 11. – P. 541–559.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

- 1 Рисунок 1 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Справа сверху – юстаканаликулярная ткань плотного строения, содержащая матрикс-продуцирующие клетки и отдельные мелкие зерна меланина. В склере коллекторные каналы и водяные вены с редуцированными просветами. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 450..... С. 51
- 2 Рисунок 2 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Вверху – участок юстаканаликулярной ткани неплотного строения. К одиночным элементам лимфодренажной системы приурочены мононуклеарные клетки. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 350 С. 51
- 3 Рисунок 3 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Коллекторные каналы с узкими просветами. Неравномерная плотность волокон и экстрацеллюлярного матрикса склеры. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. 650 ... С. 53
- 4 Рисунок 4 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Водяные вены с широкими просветами, крупными эндотелиоцитами; периваскулярные зерна меланина и скопления матрикс-продуцирующих клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 650 С. 53
- 5 Рисунок 5 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Высокая осмиофильность и деструкция фибробласта; фрагменты разрушенных клеток; отек межклеточного матрикса. Электронная микроскопия. Ув. 12000 С. 54
- 6 Рисунок 6 – Фрагмент склеры впервые оперированного пациента с ПОУГ. Коллекторный канал: расширенный просвет, нарушение целостности эндотелиальной выстилки. Отсутствие базальной мембраны. Электронная микроскопия. Ув. 12000 С. 55

- 7 Рисунок 7 – Фрагмент предыдущего рисунка. Эндотелиоцит с высокой осмиофильностью цитоплазматического матрикса и маргинальным гетерохроматином, в перикарионе крупная митохондрия с тонкими кристами. Электронная микроскопия. Ув. 25000 С. 55
- 8 Рисунок 8 – Фрагмент рисунка 6. Маргинальная конденсация хроматина и расширенные ядерные поры в ядре эндотелиоцита; в цитоплазме вакуоли и многочисленные митохондрии. Электронная микроскопия. Ув. 30000 С. 56
- 9 Рисунок 9 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Расширенные просветы коллекторных канальцев и водяных вен. Справа – выраженная очаговая пролиферация фибробластов, эозинофилия основного вещества соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 160 С. 59
- 10 Рисунок 10 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Выраженная очаговая пролиферация фибробластов у края резекции. Полутонкий срез, окраска толудиновым синим. Ув. 900 С. 59
- 11 Рисунок 11 – Поперечно ориентированный фиброцит и параллельные толстые коллагеновые фибриллы в склере повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 12000 С. 61
- 12 Рисунок 12 – Фиброцит и хаотично ориентированные волокна различной осмиофильности с преобладанием коллагеновых фибрилл в склере пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 10000 С. 61
- 13 Рисунок 13 – Фибробласт с множеством цитоплазматических органелл и крупной вакуолью в склере пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Электронограмма. Ув. 8000 С. 63

- 14 Рисунок 14 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Цитоплазматический отросток фибробласта: электронно-светлый цитоплазматический матрикс, множество рибосом, микрофибрилл, везикулы и митохондрии. Электронограмма. Ув. 30000 С. 63
- 15 Рисунок 15 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Два фибробласта с умеренным содержанием цитоплазматических органелл. Перицеллюлярно – тонкие ретикулярные и коллагеновые фибриллы. Электронограмма. Ув. 8000 С. 64
- 16 Рисунок 16 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Пучки коллагеновых фибрилл с клеточным детритом и конденсированными компонентами внеклеточного матрикса. Электронная микроскопия. Ув. 8000 С. 64
- 17 Рисунок 17 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Остатки клеточных органелл, разволокнение и отек соединительной ткани. Электронограмма. Ув. 8000 С. 65
- 18 Рисунок 18 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Резко выраженный полиморфизм экстрацеллюлярного матрикса и фибрилл соединительной ткани в области лимфодренажных элементов склеры. Электронограмма. Ув. 8000 С. 65
- 19 Рисунок 19 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерной ПОУГ. Высокая осмиофильность эндотелиоцита коллекторного канальца, субэндотелиальный отек и параллельные коллагеновые фибриллы. Электронограмма. Ув. 8000 С. 66
- 20 Рисунок 20 – Фрагмент склерального лоскута повторно оперированного пациента с рефрактерной ПОУГ. Отек внеклеточного матрикса и неравномерность локализации волокон соединительной ткани. Электронная микроскопия. Ув. 10000 С. 67

- 21 Рисунок 21 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ. Миелинизированное нервное волокно с признаками деструкции миелина. Электронная микроскопия. Ув. 12000 С. 67
- 22 Рисунок 22 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 2,5 года после 2-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии; гипотензивная терапия аналогами простагландинов. Декомпенсированное ВГД (28 мм рт. ст.). Облитерация интрасклеральной полости, плоская фильтрационная подушка С. 70
- 23 Рисунок 23 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 2,0 года после 2-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии с комбинированной терапией β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы до операции. Компенсированное ВГД (18 мм рт. ст.). Высокая интрасклеральная полость, выраженная фильтрационная подушка ... С. 70
- 24 Рисунок 24 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 1 год после 1-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии, гипотензивная терапия β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы. Компенсированное ВГД (18 мм рт. ст.). Низкая интрасклеральная полость, кистозная фильтрационная подушка С. 71
- 25 Рисунок 25 – Ультразвуковая биомикроскопия зоны оперативного вмешательства через 1,0 год после 1-й антиглаукомной операции проникающего типа – глубокой склерэктомии с комбинированной терапией β -блокаторами и ингибиторами карбоангидразы до операции. Декомпенсированное ВГД (36 мм рт. ст.). Облитерация интрасклеральной полости, плоская фильтрационная подушка С. 71

- 26 Рисунок 26 – Сравнительный анализ средних параметров послеоперационной УБМ переднего отрезка глаза у пациентов с компенсированным (2-я группа) и декомпенсированным (3-я группа) ВГД, использующих местные гипотензивные препараты или их сочетания. При сравнении с контрольными показателями : 1 – ($p \leq 0,05$), 2 – ($p \leq 0,01$), 3 – ($p \leq 0,001$) С. 73
- 27 Рисунок 27 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, отсутствие местной медикаментозной терапии. CD34-позитивные эндотелиоциты элементов дренажной системы глаза. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 81
- 28 Рисунок 28 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, монотерапия аналогами простагландинов. CD34-позитивные эндотелиоциты элементов дренажной системы глаза. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 82
- 29 Рисунок 29 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 82
- 30 Рисунок 30 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Умеренно выраженная экспрессия CD34. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 83

- 31 Рисунок 31 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, отсутствие местной медикаментозной терапии. Выраженная экспрессия фибронектина во внеклеточном матриксе склеры. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 84
- 32 Рисунок 32 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Слабо выраженная экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; диаминобензидин и гематоксилин Майера. Ув. 450 С. 85
- 33 Рисунок 33 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера С. 85
- 34 Рисунок 34 – Фрагмент склерального лоскута впервые оперированного пациента с ПОУГ, монотерапия аналогами простагландинов. Умеренно выраженная экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; DAB-визуализация, докраска гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 86
- 35 Рисунок 35 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Очаговая экспрессия CD34 элементами лимфодренажной системы склеры. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 87

- 36 Рисунок 36 – Негативный контроль для предыдущего рисунка. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод без первичных антител; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 87
- 37 Рисунок 37 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с аналогами простагландинов. Неравномерная экспрессия CD34 эндотелиальными клетками. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 88
- 38 Рисунок 38 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия ингибиторами карбоангидразы. Очаговая экспрессия CD34 клеточными элементами юкстаканаликулярной ткани. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 650 С. 89
- 39 Рисунок 39 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия аналогами простагландинов. Выраженная экспрессия фибронектина, очаговые скопления пролиферирующих фибробластов. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 90
- 40 Рисунок 40 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами. Очаговая экспрессия фибронектина на фоне фибробластов с длинными отростками. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Ув. 450 ... С. 90

- 41 Рисунок 41 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, местная гипотензивная терапия β -блокаторами в сочетании с ингибиторами карбоангидразы. Слабая экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска DAB и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 91
- 42 Рисунок 42 – Фрагмент склерального лоскута пациента с рефрактерным течением ПОУГ, трехкомпонентная терапия. Очаговая экспрессия фибронектина. Иммуногистохимическая реакция, непрямой двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод; докраска DAB и гематоксилином Майера. Ув. 450 С. 91
- 43 Рисунок 43 – Экспрессия фибронектина в склеральных лоскутах пациентов по данным автоматического анализа изображения. Отсутствие достоверных различий ($p > 0,5$) С. 92
- 44 Рисунок – 44. Распределение уровня ВГД в зависимости от стадии глаукомы перед первичной операцией, 95 % доверительный интервал С. 97
- 45 Рисунок 45 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы местной медикаментозной терапии перед первой антиглаукомной операцией, декомпенсированное ВГД, 95 % доверительный интервал С. 97
- 46 Рисунок 46 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии ПОУГ и схемы местного гипотензивного лечения при декомпенсированном ВГД перед первой операцией ($n = 527$), 95 % доверительный интервал. В 3-й схеме лечения пациенты с III стадией отсутствовали, и в 6-й схеме было лишь одно клиническое наблюдение С. 98
- 47 Рисунок 47 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии ПОУГ - неоперированные глаза с компенсированным ВГД, 95 % доверительный интервал С. 99
- 48 Рисунок 48 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы консервативной терапии неоперированных глаз пациентов с компенсированным ВГД, 95% доверительный интервал С. 100

49	Рисунок 49 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии ПОУГ и схемы лечения в группе неоперированных глаз с компенсированным ВГД, 95 % доверительный интервал	С. 101
50	Рисунок 50 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии глаукомы – наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал	С. 102
51	Рисунок 51 – Распределение значений ВГД в зависимости от схемы консервативной терапии – наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал	С. 102
52	Рисунок 52 – Распределение средних показателей ВГД в зависимости от стадии глаукомы и схемы лечения – суммарно наблюдения с компенсированным ВГД: 467 – неоперированные и 81 – оперированные, 95 % доверительный интервал. На III стадии ПОУГ при применении схемы 3 – 1 наблюдение	С. 103
53	Рисунок 53 – Распределение значений ВГД в зависимости от стадии ПОУГ в группе с рефрактерным течением, 95 % доверительный интервал	С. 104
54	Рисунок 54 – Механизмы действия различных групп местных антиглаукомных гипотензивных препаратов на структурные элементы угла передней камеры глаза	С. 126
55	Таблица 1 – Моно- и комбинированная местная гипотензивная терапия	С. 47
56	Таблица 2 – Результаты ультразвуковой биомикроскопии вновь созданных путей оттока ВГЖ при ПОУГ с компенсированным и декомпенсированным ВГД при применении местных гипотензивных препаратов ($M \pm m$)	С. 74
57	Таблица 3 – Распределение пациентов по возрасту ($M \pm m$) с учетом компенсации ВГД и количества антиглаукомных операций	С. 95

58	Таблица 4 – Характеристика стадий ПОУГ и предоперационной медикаментозной гипотензивной терапии	С. 95
59	Таблица 5 – Характеристика схем терапии в зависимости от стадий ПОУГ	С. 96
60	Таблица 6 – Состояние хрусталика в зависимости от ВГД и схемы терапии	С. 107
61	Таблица 7 – Состояние хрусталика в зависимости от ВГД у оперированных пациентов (расчет процентов по вертикали)	С. 109
62	Таблица 8 – Количество глаз пациентов в условиях применения различных групп препаратов местной гипотензивной терапии при рефрактерном течении ПОУГ	С. 110
63	Таблица 9 – Длительность периода компенсации ВГД после антиглаукомной операции у пациентов с рефрактерным течением ПОУГ	С. 111