

УДК 617.7-007.681: 617.713-07

Исследование факторов регуляции экстраклеточного матрикса и биомеханических свойств корнеосклеральной оболочки при физиологическом старении и первичной открытоугольной глаукоме

АРАПИЕВ М.У., аспирант отдела глаукомы;

ЛОВПАЧЕ Д.Н., к.м.н., старший научный сотрудник отдела глаукомы;

СЛЕПОВА О.С., д.б.н., профессор, руководитель отдела иммунологии и вирусологии;

БАЛАЦКАЯ Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии.

ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, 105062, Российская Федерация, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19.

Финансирование исследования проходило в рамках диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на базе МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца РФ. Авторы не имеют финансовых интересов в рамках этого исследования. Конфликт интересов: отсутствует.

Резюме

ЦЕЛЬ. Сравнительный анализ биомеханических параметров фиброзной оболочки глаза и показателей экстраклеточного матрикса (ЭКМ) у пациентов с подозрением на первичную открытоугольную глаукому (ПОУГ), начальной стадией ПОУГ и здоровых лиц пожилого возраста, а также в различных возрастных группах контроля.

МЕТОДЫ. В исследование было включено 60 человек в возрасте от 21 года до 74 лет.

Первую группу составили 16 здоровых людей молодого возраста ($n=16$; средний возраст $26,3 \pm 5$ лет; «молодой контроль»), вторую группу — 17 практически здоровых лиц пожилого возраста ($n=17$; $69,2 \pm 4$ года; «возрастной контроль») без признаков офтальмопатологии. В третью группу вошли 17 человек с подозрением на ПОУГ ($n=17$; средний возраст $68,2 \pm 6$ лет). Четвертую группу составили 10 пациентов с начальной стадией ПОУГ ($n=10$; средний возраст $67,6 \pm 5$ лет; поражение одного или обоих глаз).

Офтальмологическое исследование включало помимо стандартных методов (визометрия, тонометрия, биомикроскопия, гониоскопия, статическая автоматическая периметрия) дополнительные методы (лазерная сканирующая томография). Исследование биомеханических параметров фиброзной оболочки было проведено при помощи аппарата Ocular Response Analyzer (ORA) («Reichert», США).

Лабораторные исследования были проведены всем обследуемым лицам. В статье представлены результаты комплексного исследования факторов регуляции ЭКМ — матриксной металлопротеиназы — 9 (MMP-9), тканевого

полиспецифического ингибитора матриксных металлопротеиназ 4 типа (TIMP-4) в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ), а также биомеханических свойств корнеосклеральной капсулы (фактора резистентности роговицы (ФРР), корнеального гистерезиса (КГ) и соотношения КГ и ФРР (КГ/ФРР) у пациентов с подозрением на ПОУГ, начальной стадией ПОУГ и здоровых лиц различных возрастных групп.

Содержание факторов регуляции внеклеточного матрикса MMP-9 и TIMP-4 в СК и СЖ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA); диагностические тест-системы Bender MedSystems® («Biosciences», Австрия; «R&D Diagnostics Inc.», США). Всего исследовано 60 проб СЖ и 60 проб СК.

Статистическая обработка материала проводилась в программе SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Для сравнения двух независимых групп использовался непараметрический U-критерий Манна—Уитни. Корреляционный анализ проводился по Спирману (r). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Результаты исследования показали, что пожилой возраст, наличие подозрения на ПОУГ и начальная стадия ПОУГ ассоциировались с комплексом изменений состояния корнеосклеральной капсулы и более или менее выраженными сдвигами в системе регуляции ЭКМ на местном (СЖ) и системном (СК) уровнях. Данные, полученные при двунаправленной аппланационной тонометрии, косвенно определяющие функциональную состоятельность фиброзной оболочки глаза, показали снижение ее вязкоэластических свойств с возрастом и при развитии начальной стадии ПОУГ:

Для контактов:

Арапиев Магомед Усманович, e-mail: usmanyach@yandex.ru

выявлена взаимосвязь между параметром КГ и возрастом (статистически значимое снижение с возрастом), КГ и изменениями при начальной стадии ПОУГ (аналогичная динамика). Кроме того, в группе с подозрением на ПОУГ (3-я группа) и при переходе в начальную стадию ПОУГ (4-я группа) отмечалось статистически значимое дальнейшее снижение исходно низкого соотношения КГ и ФРР (в 3-й группе по сравнению с «возрастным» контролем), что согласуется с результатами А.А. Антонова, предложившего данную методику.

При исследовании содержания MMP-9 и ингибитора на местном (СЖ) и системном (СК) уровнях характерным для группы «возрастного» контроля (2-я группа) по сравнению с группой здоровых лиц молодого возраста (1-я группа) явилось значительное, статистически достоверное повышение уровня TIMP-4 в СЖ ($p=0,0001$). При этом тенденция к его прогрессивному росту в СЖ наблюдалась у пациентов при подозрении на ПОУГ и далее при переходе в начальную стадию ПОУГ.

При проведении анализа парных корреляций выявленная статистически значимая сильная обратная взаимосвязь между КГ и TIMP-4 в СЖ ($r=-0,510$; $p=0,01$) позво-

ляет предположить наличие инволюционной фоновой перестройки корнеосклеральной оболочки с повышением её жесткости, сопровождаемой дисбалансом в регуляторных звеньях СТ.

Установлено, что физиологическое старение ассоциировалось со значительным подъемом TIMP-4 на локальном уровне ($p=0,0001$), а при подозрении на ПОУГ имела место повышенная системная продукция MMP-9. Значения КГ и КГ/ФРР снижались как с возрастом, так и при «старте» ПОУГ.

Выявленная достоверная корреляционная взаимосвязь между показателями КГ и уровня TIMP-4 в СЖ ($r=-0,510$; $p=0,01$) позволяет предположить наличие возрастной перестройки корнеосклеральной капсулы с повышением её жесткости; значительное усиление системной продукции MMP-9 может играть одну из ключевых ролей в запуске патологических изменений в СТ фиброзной оболочки глаза и быть одним из важнейших факторов, приводящих к старту и развитию ПОУГ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: корнеальный гистерезис, экстрацеллюлярный матрикс, старение, матриксные металлопротеиназы.

ENGLISH

Investigation of regulatory factors of the extracellular matrix and cornea-scleral biomechanical properties in physiological aging and primary open-angle glaucoma

ARAPIEV M.U., Postgraduate student of the Glaucoma Department;

LOVPACHE D.N., Ph.D., Senior Research Associate of the Glaucoma Department;

SLEPOVA O.S., Biol.Sc. D., Professor, Head of the Immunology and Virology Department;

BALATSKAYA N.V., Ph.D., Leading Research Associate of the Immunology and Virology Department.

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Russian Federation, Moscow, 105062, 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya st.

Financing of research took place within dissertation work on competition of an academic degree of the candidate of medical sciences on the basis of MNII of eye diseases of Helmholtz MZ Russian Federation.

Authors have no financial interests within this research. Conflicts of Interest and Source of Funding: none declared.

Abstract

PURPOSE: Comparative analysis of the biomechanical parameters of the fibrous tunic of the eyeball and extracellular matrix (ECM) characteristics in patients with suspected POAG, early-stage POAG and healthy elderly people, as well as control groups of various ages.

METHODS: The study included 60 people aged 21 to 74 years.

The first group consisted of 16 healthy young adults ($n=16$; mean age 26.3 ± 5 years; "young" control group), the second group included 17 healthy elderly subjects ($n=17$; 69.2 ± 4 years "age" control group) with no signs of ophthalmological pathology. The third group consisted of 17 people with suspected POAG ($n=17$; mean age 68.2 ± 6 years; with

IOP above 21 mm Hg for three consecutive measurements (average central corneal thickness) and absence of visual field defects on the threshold perimetry test). The fourth group consisted of 10 patients with early-stage POAG ($n=10$; mean age 67.6 ± 5 years; lesion of one or both eyes). Therapy was discontinued 2 weeks prior to the study. Ophthalmic examination included both the standard (visometry, tonometry, biomicroscopy, gonioscopy, automatic static perimetry) and additional methods (laser scanning tomography). Investigation of the fibrous tunic biomechanical parameters was conducted using the Ocular Response Analyzer (ORA) («Reichert», USA). All subjects underwent lab tests. The content of the regulation of extracellular

matrix factors, MMP-9 and TIMP-4, in the serum and tear fluid was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA; diagnostic test systems Bender MedSystems® («eBiosciences», Austria; «R & D Diagnostics Inc.», US). We investigated 60 tear fluid samples and 60 serum samples. Statistical processing was made in the SPSS program 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Two independent groups were compared with the use of nonparametric U-test Mann-Whitney test. Correlation analysis was performed using the Spearman test (r). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS: The results showed that elderly age, suspected POAG, and the early-stage of POAG were associated with a set of changes in the cornea-scleral capsule and more or less expressed changes in the ECM regulation system both on local and systemic levels.

Thus, the data obtained from the bi-directional applanation tonometry showed a reduction of viscoelastic properties of fibrous tunic associated with age and the development of the early-stage of POAG: the correlation between the age and corneal hysteresis (CH) (significant decrease with age), CH and changes in the early-stage of POAG (similar dynamics). In the study of MMP-9 and TIMP 4 content

a significant increase in TIMP-4 level in tear fluid was detected in the 2-nd group compared to the 1-st ($p=0.0001$). This tendency to a progressive increase of tear fluid TIMP 4 was observed in patients with suspected of POAG and early-stage of POAG. Pair correlations analysis revealed a statistically significant strong inverse relationship between CH and TIMP-4 level in the tear fluid ($r=-0,510$; $p=0,01$).

It was found that physiological aging was associated with a significant rise of TIMP-4 on local level ($p=0.0001$), whereas patients suspected of POAG had an increased MMP-9 production on systemic level. CH and CH/corneal resistance factor (CRF) decreased with age, and in initial POAG. We also revealed a significant correlation between the CH and TIMP-4 levels in tear fluid ($r=-0,510$; $p=0,01$), which suggests the presence of age associated cornea-scleral capsule restructuring resulting in an increase of its stiffness. Significant increase of the systemic level of MMP-9 may play a key role in the launch of pathological changes in the cornea-scleral capsule of the eye and be one of the major factors leading to the development of POAG.

KEYWORDS: corneal hysteresis, extracellular matrix, aging, matrix metalloproteinases.

Актуальность

Согласно современным представлениям, первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является мультифакторным заболеванием. Известен целый ряд факторов, способствующих развитию ПОУГ, однако ведущими, не вызывающими сомнений, принято считать повышение внутриглазного давления (ВГД) и пожилой возраст пациента [1].

Несмотря на многочисленные исследования, патогенез ПОУГ расшифрован далеко не полностью. Имеются доказательства (преимущественно данные гистологических исследований дренажного аппарата и решетчатой пластинки зрительного нерва) важной роли изменений соединительной ткани (СТ) глаза при возникновении и развитии заболевания [2]. В последние годы среди работ, посвященных проблеме патогенеза ПОУГ, возрос интерес к изучению фиброзной оболочки глаза [3]. Установлено, что значительную роль в развитии и прогрессировании заболевания играет изменение состояния корнеосклеральной капсулы глазного яблока, в частности, биохимического состава ее тканей и физических свойств [4].

Было показано, что с возрастом из-за изменений структуры компонентов экстраклеточного матрикса (ЭКМ), обусловленных избыточным формированием поперечных химических связей между волокнами коллагена, деградацией эластина, нарушением синтеза протеогликанов, повышается жесткость и снижаются эластические свойства роговицы и склеры глаза [5]. Согласно механической теории патогенеза ПОУГ, такое состояние и/или изменение биомеханических свойств глазного яблока

с ремоделированием структур СТ, с одной стороны, влияет на отток внутриглазной жидкости через дренажную зону, а с другой, создает условия для компрессионного повреждения аксонов ганглиозных клеток сетчатки, что приводит к их гибели [6].

Помимо возрастных изменений ЭКМ были выявлены и охарактеризованы патологические изменения элементов СТ корнеосклеральной оболочки при ПОУГ (также при помощи гистологических исследований): аномальный фибриллогенез ЭКМ, нарушения в структуре коллагенов («закрученные» коллагеновые волокна вместо упорядоченных пластов), накопление гликозаминогликанов, активная экспрессия и накопление специализированного белка ЭКМ гликопротеина фибронектина в глубоких и внутренних слоях склеры [3].

В норме ЭКМ не только обеспечивает трехмерную структуру тканей и органов, но также играет решающую роль в пролиферации, дифференцировке, выживаемости и миграции клеток. Регуляция ЭКМ осуществляется большим количеством протеолитических ферментов, относящихся к различным семействам, в частности, металло- и сериновых протеиназ, а также специфических ингибиторов их активности [7, 8].

Семейство матриксных металлопротеиназ (MMPs) играет ключевую роль в ремоделировании ЭКМ в норме и при патологических процессах: участвует в миграции клеток, расщеплении белков ЭКМ и последующей реконструкции тканей, регулирует действие цитокинов, ростовых факторов и адгезивных молекул.

Необходимым условием нормального протекания физиологических процессов в ЭКМ является поддержание равновесия между активностью MMP и их специфических регуляторов — тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMPs). Нарушение баланса в системе MMP и TIMP приводит к патологической репарации, а также может оказывать негативное воздействие на ангиогенез, миграцию клеточных элементов.

Это привлекло внимание биологов, медиков, патологов; появились работы, направленные на оценку состояния СТ при различных заболеваниях, в том числе и при глазной патологии. В настоящее время проводятся исследования сыворотки крови (СК), внутриглазной (ВГЖ) и слезной жидкостей (СЖ).

Так, исследования ВГЖ показали, что она содержит широкий спектр MMP и их ингибиторов в норме и при ряде заболеваний глаз, таких как псевдоэксфолиативный синдром (ПЭС), ПОУГ, катаракта [9, 10].

Предприняты попытки изучения отдельных факторов регуляции ЭКМ (определения уровней отдельных представителей семейства MMPs и TIMPs), в основном MMP-9 (расщепляющей исключительно коллагены) и узкоспецифичного TIMP-1 (действующего на ограниченный спектр коллагеназ) в аспекте патогенеза ПОУГ. Полученные данные противоречивы, множество вопросов остаются до настоящего момента нерешенными, исследования факторов регуляции ЭКМ при инволюционном процессе и на ранних стадиях заболевания практически отсутствуют. Остаются малоизученными ингибиторы MMPs, обладающие полиспецифичностью, в частности TIMP-4 [11].

В настоящее время предложен инструментальный способ точной оценки вязкоэластических свойств фиброзной оболочки глаза с помощью ее двунаправленной аппланации при помощи анализатора Ocular Response Analyzer («Reichert», США) (ORA). Прибор позволяет определить два основных параметра: фактор резистентности роговицы (ФРР), характеризующий ее упругие свойства и прямо коррелирующий с ее толщиной, и роговичный (корнеальный) гистерезис (КГ) — показатель ее вязкоэластических свойств [12].

Наблюдения показали, что повышение ФРР наблюдается в результате снижения эластичности роговицы под воздействием повышенного ВГД [13]. Считают, что сниженное значение КГ может являться независимым критерием возникновения и/или прогрессирования глаукоматозного процесса [14, 15] и отражать результат «корнеального ремоделирования» при глаукоме. Получены данные, указывающие на снижение КГ с возрастом и взаимосвязь между КГ и показателем центральной толщины роговицы (ЦТР) [16-18]. В корреляционном анализе выявлены взаимосвязи между КГ и глубиной

экскавации диска зрительного нерва (ДЗН), а также КГ и показателем отношения площади экскавации к площади ДЗН. В исследованиях А.А. Антонова указывается на равенство значений ФРР и КГ в норме: соотношение этих показателей (КГ/ФРР) составляет в среднем 1,0. При ПОУГ отмечены существенные изменения показателя КГ/ФРР, значение которого при повышенном офтальмотонусе достоверно снижалось по сравнению с группой здоровых, а после нормализации ВГД увеличивалось до нормальных значений [19].

Таким образом, исходя из вышесказанного, большой интерес представляет проведение комплексного исследования (клинико-инструментального и лабораторного) возможных взаимосвязей между биомеханическими параметрами корнеосклеральной капсулы и факторами, отражающими состояние ЭКМ (MMPs и TIMPs), с целью выявления их роли в формировании изменений фиброзной оболочки глаза при физиологическом старении и развитии ПОУГ.

Цель настоящей работы — сравнительный анализ биомеханических параметров фиброзной оболочки глаза и показателей ЭКМ пациентов с подозрением на ПОУГ, начальной стадией ПОУГ и здоровых лиц пожилого возраста, а также в различных возрастных группах контроля.

Материалы и методы

В исследование было включено 60 человек в возрасте от 21 до 74 лет.

Первую группу составили 16 здоровых людей молодого возраста ($n=16$; средний возраст $26,3 \pm 5$ лет; «молодой контроль»), вторую группу — 17 практически здоровых лиц пожилого возраста ($n=17$; $69,2 \pm 4$ года; «возрастной контроль») без признаков офтальмопатологии. В 1-й и во 2-й группах для исследования выбрали правый глаз.

В группу подозрения на ПОУГ включали пациентов с показателями ВГД ≥ 21 мм рт.ст. (тонометрия по Гольдману) при трех последующих измерениях, значениях GPs (glaucoma probability score) при лазерной сканирующей томографии диска зрительного нерва на аппарате HRT-3 («Heidelberg Engineering GmbH», Dossenheim, Germany) от 0,36 до 0,60, а также возможным наличием косвенных клинических признаков, обнаруженных при стандартном офтальмологическом осмотре (дисперсия пигмента по радужке, псевдоэксфолиативные отложения). В 4-ю группу вошли пациенты с диагностированной стандартными офтальмологическими методами ПОУГ начальной стадии одного или обоих глаз, со значениями GPs больше 0,61. Пациенты, которые получали гипотензивную терапию, прекращали лечение за 2 недели до начала исследования. При наличии ПОУГ или подозрения на ПОУГ в обоих глазах для исследования выбирали худший глаз.

Критерии исключения:

- 1) показатели рефракции от -3,0 до +1,5 дптр, астигматизм не более 1,0 дптр;
- 2) системные коллагенозы в анамнезе;
- 3) наличие выраженной офтальмологической и соматической патологии. В возрастных группах допускалось наличие начальной возрастной катаракты, гипертонической болезни I степени, ИБС ФК I в стадии клинической компенсации.

Офтальмологическое исследование включало помимо стандартных методов (визометрия, тонометрия, биомикроскопия, гониоскопия, статическая автоматическая периметрия) дополнительные методы (лазерная сканирующая томография). Исследование биомеханических параметров фиброзной оболочки было проведено при помощи аппарата Ocular Response Analyzer (ORA) («Reichert», США).

Определялись следующие показатели корнеопахиметрии:

- 1) ФРП — маркер ригидности, характеризующий сопротивление собственно роговичной ткани, которое существовало бы при нулевом офтальмотонусе;
- 2) КГ — величина, характеризующая вязкоэластические свойства роговицы;
- 3) соотношение КГ к ФРП (КГ/ФРП) как тензиозависимый маркер нестабильного течения ПОУГ, предложенный А.А. Антоновым с соавт. [19];
- 4) ЦТР.

Лабораторные исследования были проведены всем обследуемым лицам. Содержание факторов регуляции внеклеточного матрикса MMP-9 и TIMP-4 в СК и СЖ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA; диагностические тест-системы Bender MedSystems® («eBiosciences», Австрия; «R&D Diagnostics Inc.» США). Всего исследованы 64 пробы СЖ и 60 проб СК.

Статистическую обработку материала проводили в программе SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Распределение признака в исследуемых выборках подвергалось проверке. При распределении признака, близкого к нормальному, использовали

стандартные методы параметрической статистики с вычислением среднего (M) и среднеквадратического отклонения (σ). При отклонении нормальности в распределении признака данные обрабатывались вычислением медианы (Me) для интерквартильного интервала — 50% центральных наблюдений между 25-м и 75-м процентилями ($LQ - UQ$ соответственно). Для сравнения двух независимых групп использовался непараметрический U -критерий Манна — Уитни. Корреляционный анализ проводили по Спирману (r). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты определения содержания MMP-9 и TIMP-4 в СК и СЖ у здоровых лиц молодого и пожилого возраста, пациентов с подозрением на ПОУГ, начальной ПОУГ представлены в табл. 1-3.

В СК исследуемых групп MMP-9 выявлялась в 58,8-81,2% случаев (табл. 1); TIMP-4 обнаружен во всех пробах биологических жидкостей пациентов и лиц контрольных групп.

Сравнительный анализ результатов не выявил существенной разницы в содержании MMP-9 и ее ингибитора TIMP-4 в СК здоровых лиц молодого и пожилого возраста без явных признаков офтальмопатологии (табл. 2). При исследовании СК у пациентов 3-й (подозрение на ПОУГ) и 4-й

Таблица 1
Частота выявления MMP-9 в СК здоровых лиц молодого, пожилого возраста, пациентов с подозрением на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ

Показатель	Исследуемые группы				
	1-я (n=16)	2-я (n=17)	3-я (n=17)	4-я (n=10)	
MMP-9	абс.	13	10	13	7
	%	81,2	58,8	76,4	70

Примечание: n — число человек в группе.

Таблица 2

Содержание MMP-9 и TIMP-4 в СК здоровых лиц молодого, пожилого возраста, пациентов с подозрением на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ

Показатель	Исследуемые группы			
	1-я (n=16)	2-я (n=17)	3-я (n=17)	4-я (n=10)
MMP-9 (нг/мл), Me (LQ-UQ)	1616 (1430-2075)	1570 (1344-1818)	2104*↑ (1810-2521) p=0,01 (3-4)	2200 (1628-2440)
TIMP-4 (пг/мл), Me (LQ-UQ)	906 (673,5-1180,5)	967 (773,5-1085)	972 (752-1426,5)	982 (746-1644,5)

Примечание: Me — медиана; LQ-UQ — интерквартильный интервал между 25-м и 75-м процентилями в распределении признака; * — достоверность различия параметров в группе с подозрением на ПОУГ по сравнению с группой «возрастного» контроля ($p < 0,05$); p — уровень значимости; ↑ — повышение уровня фактора в тест-пробе; n — количество человек в группе.

Содержание ММР-9 и ТИМР-4 в СЖ здоровых лиц молодого, пожилого возраста, пациентов с подозрением на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ

Показатель	Исследуемые группы			
	1-я (n=16)	2-я (n=17)	3-я (n=17)	4-я (n=10)
ММР-9 (нг/мл), Me (LQ-UQ)	194 (58,7-318)	126,6 (60,5-309)	107,5 (45,7-212)	125,5 (45,7-461)
ТИМР-4 (пг/мл), Me (LQ-UQ)	8,7 (7,2-18,5)	23,4* ↑ (20,6-37,3) p=0,0001 (1-2)	24,4 (13,3-33,4)	28,6 (21,2-38,5)

Примечание: Me – медиана; LQ-UQ – интерквартильный интервал между 25 и 75 процентилями в распределении признака; * – достоверность различия параметров между группами «молодого» и «возрастного» контролей (p<0,05); p – уровень значимости; ↑ – повышение уровня фактора в тест-пробе; n – число исследованных глаз.

Таблица 4

Биомеханические показатели состояния фиброзной оболочки здоровых лиц молодого, пожилого возраста, пациентов с подозрением на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ (M; M±σ)

Показатель	Исследуемые группы			
	1-я (n=16)	2-я (n=17)	3-я (n=17)	4-я (n=10)
ЦТР (мкм)	558±58	550±43	568±38	543±43
ФРР (мм рт.ст)	11,2±1,9	10,6±1,7	11,1±1,7	10,4±2,5
КГ (мм рт.ст.)	11,5±1,6	10,2±2,8* p=0,04 (1-2)	9,5±1,5	8,6±2,5** p=0,03 (2-4)
КГ/ФРР	1,02	0,96	0,85** p=0,007 (2-3)	0,82** *** p=0,001 (2-4) p=0,05 (3-4)

Примечание: * – достоверность различия параметров по сравнению с группой «молодого» контроля (p<0,05); ** – достоверность различия показателей по сравнению с группой «возрастного» контроля (p<0,05); *** – достоверность различия параметров по сравнению с группой подозрения на ПОУГ (p<0,05); p – уровень значимости; n – число человек в группе.

(начальная стадия ПОУГ) групп, в группе с подозрением на ПОУГ выявлено статистически значимое повышение содержания ММР-9 по сравнению с «возрастным» контролем, а при переходе в начальную стадию ПОУГ наблюдалась тенденция к дальнейшему росту (в этой группе выявлены самые высокие значения ММР-9). При исследовании уровня ТИМР-4 в СК достоверных различий между группами выявлено не было.

Как показали результаты исследования СЖ, ММР-9 и ТИМР-4 обнаруживались в 100% тест-проб (табл. 3).

В ходе анализа результатов не отмечалось значительных различий в содержании ММР-9 в СЖ как у лиц обеих контрольных групп без офтальмопатологии (1-я, 2-я группы; «молодой» и «пожилой» контроль), так и у пациентов с подозрением (3-я группа) и начальной стадией ПОУГ (4-я группа).

При исследовании уровня ТИМР-4 в СЖ в группе «возрастного» контроля выявлен достоверный (p=0,0001) подъем его уровня (23,4 пг/мл), значение которого более чем в 2,5 раза превышало

такое в группе «молодого» контроля. Отмечена также тенденция к дальнейшему повышению содержания ТИМР-4 в 3-й (подозрение на ПОУГ) и далее в 4-й группах (начальной ПОУГ).

Показатели ЦТР, КГ, ФРР и КГ/ФРР у пациентов с подозрением на ПОУГ, начальной ПОУГ и здоровых лиц молодого и пожилого возраста, представлены в табл. 4.

Средние значения ЦТР во всех группах находились в пределах границ популяционной нормы и статистически не различались между собой. Не было обнаружено достоверной разницы ФРР между группами «возрастного» и «молодого» контроля (1-я и 2-я группы), а также при сравнении 3-й (подозрение на ПОУГ) и 4-й (начальная стадия ПОУГ) групп. При анализе показателей КГ выявлены достоверные различия между 1-й («молодой» контроль) и 2-й («возрастной» контроль) группами (p=0,04), а также между группами «возрастного» контроля и начальной ПОУГ (2-я и 4-я группы) (p=0,03). Значения КГ/ФРР в группах «возрастного» (1-я группа) и «молодого» контроля (2-я группа)

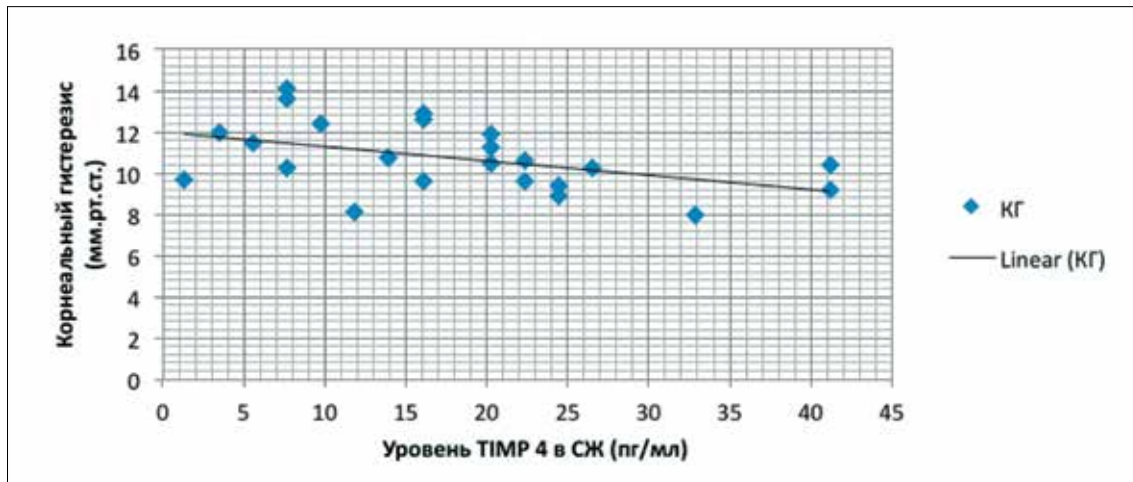


Рис. 1. График корреляционной взаимосвязи КГ и концентрации ТИМР-4 в СЖ групп «молодого» и «возрастного» контроля

были сопоставимы и статистически не различались между собой. Достоверная разница в данном параметре выявлена между группами «возрастного» контроля (2-я группа) и подозрения на глаукому (3-я группа) ($p=0,007$), между 3-й (подозрение на ПОУГ) и 4-й (начальная стадия ПОУГ) группами ($p=0,05$), а также между группой «возрастного» контроля (2-я группа) и группой начальной ПОУГ (4-я группа) ($p=0,0001$)

В ходе парного корреляционного анализа биомеханических параметров корнеосклеральной капсулы и факторов регуляции СТ установлена достоверная сильная обратная взаимосвязь между показателями КГ и тканевым ингибитором ТИМР-4 в СЖ лиц «молодого» и «возрастного» контроля (1 и 2-я группы; $r=-0,510$; $p=0,01$) (рис. 1).

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что пожилой возраст, наличие подозрения на ПОУГ и начальная стадия ПОУГ ассоциировались с комплексом изменений состояния корнеосклеральной капсулы и более или менее выраженными сдвигами в системе регуляции ЭКМ на местном (СЖ) и системном (СК) уровнях.

Данные, полученные при двунаправленной аппланационной тонометрии, показали снижение ее вязкоэластических свойств с возрастом и при развитии начальной стадии ПОУГ: выявлена взаимосвязь между параметром КГ и возрастом (статистически значимое снижение с возрастом), а также КГ и изменениями при начальной стадии ПОУГ (аналогичная динамика).

Кроме того, в группе с подозрением на ПОУГ (3-я группа) и при переходе в начальную стадию ПОУГ (4-я группа) отмечалось статистически значимое дальнейшее снижение исходно низкого

соотношения КГ/ФРР (в 3-й группе по сравнению с «возрастным» контролем), что согласуется с результатами А.А. Антонова, предложившего данную методику [19].

При исследовании содержания ММР-9 и ТИМР-4 на местном (СЖ) и системном (СК) уровнях характерным для группы «возрастного» контроля (2-я группа) по сравнению с группой здоровых лиц молодого возраста (1-я группа) явилось значительное статистически достоверное повышение уровня ТИМР-4 в СЖ. При этом тенденция к прогрессивному росту его уровня в СЖ наблюдалась у пациентов при подозрении на ПОУГ и далее при переходе в начальную стадию ПОУГ. ТИМР-4 — полиспецифичный ингибитор металлопротеиназ, в аспекте офтальмопатологии начал изучаться сравнительно недавно. Полученные нами данные согласуются с результатами N. Fountoulakis et al. [20], исследовавшими содержание ТИМР-4 во внутриглазной жидкости у пациентов с ПЭС, псевдоэкзофиативной глаукомой и ПОУГ, однако для выявления его роли в патогенезе ПОУГ требуются дальнейшие исследования.

При проведении анализа парных корреляций выявленная статистически значимая сильная обратная взаимосвязь между КГ и ТИМР-4 в СЖ ($r=-0,510$; $p=0,01$) позволяет предположить наличие инволюционной фоновой перестройки корнеосклеральной оболочки с повышением её жесткости, сопровождаемой дисбалансом в регуляторных звеньях СТ.

Особое внимание привлекает значительное (статистически значимое) повышение уровня ММР-9 в СК пациентов с подозрением на ПОУГ и тенденция к дальнейшему росту ее содержания у пациентов с начальной стадией ПОУГ по сравнению с группой «возрастного контроля». Как известно, продукция и функциональная активность большинства MMPs контролируется многими цитокинами

и факторами роста [8]. По мнению многих исследователей, для ММР-9 таковыми индукторами являются провоспалительные цитокины и, в частности, TNF- α [21]. При этом имеются данные о повышении уровней IL-1 β , TNF- α и IL-17 в ВГЖ, СЖ и СК пациентов с ПОУГ [21].

Поэтому выявленная нами повышенная системная продукция ММР-9 у пациентов с подозрением на ПОУГ могла быть индуцирована активацией системы провоспалительных цитокинов. Не исключено, что усиленная продукция ММР-9 в этом случае может играть ключевую роль в запуске патологических изменений СТ фиброзной оболочки глаза и быть одним из важнейших факторов, приводящих к старту и развитию ПОУГ.

Таким образом, в результате проведенного исследования представлена характеристика сдвигов в системе регуляции ЭКМ на местном (СЖ) и системном (СК) уровнях в комплексе с изменениями биомеханических свойств корнеосклеральной капсулы при инволюционном процессе и первичной открытоугольной глаукоме.

Полученные данные дают основание для дальнейших исследований и разработки новых подходов к лечению, представляются важными для расшифровки предпосылок развития ПОУГ.

Литература / References:

- Еричев В.П., Егоров Е.А. Патогенез первичной открытоугольной глаукомы. *Вестник офтальмологии* 2014; 6:98-105. [Erichiev V.P., Egorov E.A. The pathogenesis of primary open angle glaucoma. *Vestn Ophthalmol* 2014; 6:98-105. (In Russ.)].
- Prata T.S., Lima V.C., Guedes L.M., Biteli L.G., Teixeira S.H., de Moraes C.G., Ritch R., Paranhos A. Jr. Association between corneal biomechanical properties and optic nerve head morphology in newly diagnosed glaucoma patients. *Clin Exper Ophthalmol* 2012; 40(7):682-688. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02790.x.
- Журавлева А.Н., Нероев В.В., Андреева Л.Д. Изучение фибронектина склеры при первичной открытоугольной глаукоме (Иммуногистохимическое исследование). *Вестник офтальмологии* 2009; 3:12-15. [Juravleva A.N., Neroyev V.V., Andreeva L.D. Study of fibronectin sclera in primary open-angle glaucoma (Immunohistochemistry). *Vestn Ophthalmol* 2009; 3:12-15. (In Russ.)].
- Иомдина Е.Н., Киселева О.А., Светикова Л.А., Любимов Г.А., Моисеева И.Н., Штейн А.А. Новый алгоритм оценки гидродинамических показателей глаза при глаукоме. *Вестник офтальмологии* 2014; 4:8-13. [Iomdina E.N., Kiseleva O.A., Svetikova L.A., Lyubimov G.A., Moiseeva I.N., Shtein A.A. A new algorithm for estimating the hydrodynamic parameters in glaucoma eyes. *Vestn Ophthalmol* 2014; 4:8-13. (In Russ.)].
- Brown C.T., Vural M., Johnson M., Trinkaus-Randell V. Age-related changes of scleral hydration and sulfated glycosaminoglycans. *Mech Aging Dev* 1994; 77:97-107. doi:10.1016/0047-6374(94)90018-3.
- Albon J., Purslow P.P., Karwatowski W.S., Easty D.L. Age related compliance of the lamina cribrosa in human eyes. *Br J Ophthalmol* 2000; 84:318-323. doi: 10.1136/bjo.84.3.318.
- Маянский Д.Н. Лекции по клинической патологии. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 201 с. [Mayanskiy D.N. Lekcii po klinicheskoy patologii [Clinical pathology lectures]. Moscow: Geotar-Media, 2008. 201 p. (In Russ.)].
- Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. Москва: Медицина, 2003. 228 с. [Paltsev M.A., Ivanov A.A., Severin S.E. Mejkletochnie vzaimodeystviya [Intercellular interactions]. Moscow: Medicina, 2003. 228 p. (In Russ.)].
- Schlötzer-Schrehardt U., Lommatzsch J., Küchle M., Konstas A.G., Naumann G.O. Matrixmetalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 2005; 14(1):64-69.
- Määttä M., Tervahartiala T., Harju M., Airaksinen J., Autio-Harmainen H., Sorsa T. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma, exfoliation syndrome, and exfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39(13):2649-2658.
- Page-McCaw A., Ewald A.J., Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:221-233. doi: 10.1038/nrm2125.
- Luce D.A. Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an ocular response analyzer. *Cataract Refract Surg* 2005; 31(1):156-162. doi.org/10.1016/j.jcrs.2004.10.044.
- Congdon N.G., Broman A.T., Bandeen-Roche K., Grover D., Quigley H.A. Central corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *Am J Ophthalmol* 2006; 141(5):868-875. doi.org/10.1016/j.ajo.2005.12.007.
- Mangouritis G., Morphis G., Mourtzoukos S., Feretis E. Association between corneal hysteresis and central corneal thickness in glaucomatous and non-glaucomatous eyes. *Acta Ophthalmol* 2009; 87(8):901-905. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01370.x.
- Kaushik S., Pandav S.S., Banger A., Aggarwal K., Gupta A. Relationship between corneal biomechanical properties, central corneal thickness, and intraocular pressure across the spectrum of glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2012; 153(5):840-849.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2011.10.032.
- Sen E., Elgin K.U., Yükekaya P., Tirhiş M.H., Aksakal F.N., Teke M.Y., Öztürk F. Age-related changes in biomechanical parameters of the cornea and intraocular pressure in a healthy Turkish population. *Turk J Med Sci* 2014; 44(4):687-690.
- Kotecha A., Russell R.A., Sinapis A., Pourjavan S., Sinapis D., Garway-Heath D.F. Biomechanical parameters of the cornea measured with the Ocular Response Analyzer in normal eyes. *BMC Ophthalmol* 2014; 14:11. doi: 10.1186/1471-2415-14-11.
- Rosa N., Lanza M., De Bernardo M., Signoriello G., Chiodini P. Relationship between corneal hysteresis and corneal resistance factor with other ocular parameters. *Semin Ophthalmol* 2014. doi:10.3109/08820538.2013.874479
- Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Антонов А.А. Исследование биомеханических свойств роговицы у пациентов с нормотензивной и первичной открытоугольной глаукомой. *Вестник офтальмологии* 2008; 5: 14-16. [Avetisov S.E., Bubnova I.A., Antonov A.A. Investigation of the biomechanical properties of the cornea in patients with normotensive and primary open-angle glaucoma. *Vestn Ophthalmol* 2008; 5:14-16. (In Russ.)].
- Fountoulakis N., Labiris G., Aristeidou A., Katsanos A., Tentes I., Kortsaris A., Kozobolis V.P. Tissue inhibitor of metalloproteinase 4 in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma, pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliative glaucoma and its role in proteolysis imbalance. *BMC Ophthalmology* 2013; 13:69. doi: 10.1186/1471-2415-13-69.
- Agarwal R., Agarwal P. Glaucomatous neurodegeneration: An eye on tumor necrosis factor-alpha. *Indian J Ophthalmol* 2012; 60(4):255-261. doi:10.4103/0301-4738.98700.

Поступила 06.08.2015