

**Еремина
Алена Викторовна**

**СТРУКТУРЫ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ОРГАНЕ ЗРЕНИЯ И ИХ
ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Новосибирский филиал) и «Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор биологических наук, профессор

Черных Валерий Вячеславович
Бгагова Наталия Петровна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
Главный научный сотрудник
лаборатории стволовой клетки
ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины» СО РАН

Майбородин Игорь Валентинович

доктор медицинских наук
заведующая офтальмологическим
отделением №3 (микрохирургическим глаукомным)
ГБУЗ «Самарская областная клиническая
офтальмологическая больница им. Т.И.Ерошевского»

Карлова Елена Владимировна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

Защита диссертации состоится «27» февраля 2018 года в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 001.048.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск) по адресу: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2. Тел./факс: (383) 333-64-56

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения и на сайте
http://centercem.ru/nauchnaya_deyatelnost/dissertacionnyj_sovet/

Автореферат разослан «__» января 2018 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук



Пальчикова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одной из значимых медико-социальных проблем современного общества является прогрессивное нарастание количества населения, страдающего глаукомой, заболеванием, которое Всемирная организация здравоохранения определила как эпидемическое заболевание неинфекционной природы, занимающее ведущее место в развитии слабовидения и слепоты во всех странах мира (Егоров Е.А., Куроедов А.В., 2012; Грищук А.С. и др., 2013; Романова Т.Б., Алябьева Ж.Ю., 2014; Kymes S. et al, 2010; Stevens G. et al., 2013; Tham Y.C. et al., 2014). В настоящее время большое внимание в мире уделяется экономическому ущербу, наносимому таким заболеванием, как первичная открытоугольная глаукома, и поиску путей оптимизации в диагностических, лечебных и реабилитационных мероприятиях (Авдеев Р.В. и др., 2015; Никифорова Е.Б., Карлова Е.В., 2015; Muratov S. et al., 2016).

Общепринятым считается, что в основе патогенеза первичной открытоугольной глаукомы лежат морфофункциональные нарушения в органе зрения, приводящие к повышению внутриглазного давления (ВГД), которое приводит к патологическим изменениям в дренажной системе глаза, определяющих и влияющих на сопротивление оттоку внутриглазной жидкости. Таким образом, механический процесс, приводящий к возрастанию гидравлического сопротивления в трабекулярной зоне, приводит к росту ВГД, создает условия для экскавации решетчатой пластинки склеры и постепенной гибели аксонов ганглиозных клеток зрительного нерва. В пользу данной теории свидетельствуют данные многочисленных исследований, в том числе и последних лет (Нестеров А.П., 1995, 2003; Хохлова А.С. и др., 2014; Загидуллина А.Ш., 2016; Чинарев В.А., Галиакберова З.Р., 2016; Ofri R., 2002; Heijl A. et al., 2002; Leske C. et al., 2003; Martus P. et al., 2005).

Развитие патологического процесса, уже в начальной стадии глаукомы, приводит к процессу деструкции и дезорганизации соединительной ткани, фибриноидному набуханию в области трабекулярного аппарата, а в более поздних стадиях заболевания к гиалинозу с потерей архитектоники и прогрессирующему склерозированию трабекулярной зоны (Кошиц И.Н. и др., 2010; Аветисов С.Э. и др., 2012; Акопян А.И. и др., 2012).

Также в трабекулярном аппарате была обнаружена дезорганизация коллагеновых и эластических волокон, пролиферация эндотелиальных клеток и облитерация шлеммова и коллекторных каналов (Андреева, Л.Д., Журавлева А.Н., 2009; Журавлева А.Н., 2010, 2011; Куроедов, А.В., 2011; Иомдина Е.Н. и др., 2015).

Однако до настоящего времени в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы остаются малоизученными вопросы, связанные с выяснением роли иммунометаболических изменений, включая нарушения цитокиновой регуляции в органе зрения, способных приводить к развитию деструктивно-воспалительного процесса, при этом наибольший интерес для изучения представляют области трабекулярного аппарата, цилиарного тела и хориоидеи, поскольку развитие в них структурных нарушений способно привести к затруднению оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) и повышению ВГД, что замыкает порочный круг заболевания.

Известно, что одной из важнейших интеграционных систем организма, играющей значимую роль в процессах выведения ксенобиотиков, продуктов, возникающих в процессе жизнедеятельности клеток, развития деструктивно-воспалительного процесса, метаболических нарушений и поддержания гомеостаза организма, является лимфатическая система (Бородин Ю.И., 2004; Сапин М.Р., 2007; Коненков В.И. и др., 2012; Петренко В.М., 2014; Николенко В.Н. и др., 2016; Negrini.D., Moriondo A., 2011).

В научной литературе до последнего времени существовали представления об отсутствии лимфатических элементов во внутренних структурах глаза, которые базировались на результатах классических исследований, проведенных в 70-х годах 20 века (Bill A., 1975), и возможная роль лимфатической системы в развитии заболеваний органа зрения практически не обсуждалась. И только в последнее десятилетие стали появляться научные публикации, посвященные выявлению элементов лимфатической системы в органе зрения человека (Kim M. et al., 2011; Nakao S. et al., 2012; Kretschmer S., 2013; Yanfang P. et al., 2014).

Степень разработанности темы исследования

После развития иммуногистохимических исследований и выявления молекулярных маркеров эндотелия лимфатических сосудов, таких как LYVE-1, Podoplanin (D2-40) и Prox-1, появились первые публикации, свидетельствующие о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения, а именно в цилиарном теле, хориоидее (Kretschmer S., 2013; Yanfang P. et al., 2014).

В экспериментальной работе (Kim M. et al., 2011) было показано, что после введения люминесцентных носителей в переднюю камеру глаза, метка через четыре часа выявлялась в шейном, заглочном и подчелюстном лимфоузлах, что позволяет сделать заключение о наличии лимфатического оттока в органе зрения. По мнению исследователей, открытие лимфатического пути оттока ВГЖ является значимым для исследования механизмов развития глаукомы (Nakao S. et al., 2012).

Вопрос о наличии и роли лимфатического пути оттока ВГЖ в норме и при офтальмологических заболеваниях остается дискуссионным (Schroedl F. et al., 2014).

Таким образом, данные о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения и их роль в формировании оттока внутриглазной жидкости, учитывая значимость лимфатической системы в утилизации продуктов метаболизма и клеточной деструкции, остаются не общепринятыми и требуют дальнейшего изучения для формирования патогенетически обоснованной терапии, профилактики и лечения пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и в связи с недостаточным методическим изучением данной проблемы с помощью методов иммуногистохимии, электронной микроскопии, что определяет актуальность исследований в этой области.

Цель исследования. Выявить лимфатические структуры в органе зрения человека, изучить их ультраструктурную организацию и морфологические изменения в трабекулярной зоне, цилиарном теле и хориоидее при первичной открытоугольной глаукоме.

Задачи исследования:

1. Выявить и изучить элементы лимфатических структур методом иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования в цилиарном теле глаза человека без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, и их изменения при первичной открытоугольной глаукоме.
2. Выявить и изучить элементы лимфатических структур методом иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования в структурах хориоидеи глаза человека без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, и их изменения при первичной открытоугольной глаукоме.
3. Изучить структурные изменения в трабекулярной зоне глаза человека при первичной открытоугольной глаукоме в сравнении с данными пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, с использованием методов электронной и световой микроскопии.
4. Изучить особенности проявления местного воспалительного процесса при первичной открытоугольной глаукоме, путем определения в слезной жидкости концентраций ИЛ-1 β , ММР-9 и TGF- β 2.

Научная новизна

Впервые установлено наличие в цилиарном теле пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, лимфатических каналов и структурированных интерстициальных пространств (тканевые щели), сформированных коллагеновыми волокнами и фибробластами. Выявлено, что для терминальной стадии первичной открытоугольной глаукомы характерно расширение интерстициальных пространств, увеличение просветов венозных сосудов, а также уменьшение количества клеток, несущих маркеры эндотелия лимфатических сосудов, свидетельствующих о застое и воспалении. Также было показано достоверное увеличение объемной плотности сосудов и интерстиция, связанное с отеком и набуханием стромы цилиарного тела.

Впервые у пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, было установлено, что в структуре хориоидеи присутствуют лимфатические каналы и лимфатические лакуны. Лимфатические каналы располагаются в сосудисто-капиллярной пластинке и ограничены эндотелиоподобными клетками, фибробластами и пигментными клетками, а лимфатические лакуны расположены в надсосудистой пластинке и выстланы эндотелиоподобными клетками и фибробластами. Впервые окрашенные лимфатические структуры выявлены на границе между склерой и решетчатой пластинкой зрительного нерва. Впервые показано, что для терминальной стадии первичной открытоугольной глаукомы характерно расширение просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов, набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками. Также было показано достоверное увеличение толщины хориоидеи, возрастание объемных плотностей эпителия, интерстициальных про-

странств и сосудов у пациентов с терминальной стадией первичной открытоугольной глаукомы, связанное с отеком и набуханием стромы хориоидеи.

Выявленные в органе зрения структурные элементы лимфатической системы уточняют строение увеолимфатического пути оттока внутриглазной жидкости, морфологические нарушения в котором, вследствие хронического воспаления, детерминируют развитие глаукоматозного процесса.

В трабекулярной зоне пациентов с терминальной стадией первичной открытоугольной глаукомы выявлены морфологические признаки воспалительного процесса, что подтверждается достоверно высокими концентрациями провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , матриксной металлопротеиназы-9 и трансформирующего фактора роста бета 2 в слезной жидкости.

Научно-практическая значимость работы

Полученные в исследовании новые фундаментальные данные расширят современные представления о наличии лимфатических структур в органе зрения человека и их изменения при первичной открытоугольной глаукоме, что позволяет на их основе разработать новые, патогенетические обоснованные, подходы к лечению и ведению пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Выявленные структурные элементы лимфатической системы в цилиарном теле, хориоидее, на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва, представленные тканевыми щелями (прелимфатики), лимфатическими лакунами, каналами, а также лимфатическими капиллярами, позволяют сделать вывод о наличии в органе зрения увеолимфатического пути оттока внутриглазной жидкости, направленного на утилизацию и выведение продуктов метаболизма и клеточной деструкции, структурные нарушения в котором имеют значимость в развитии первичной открытоугольной глаукомы.

Данные настоящего исследования могут быть использованы в преподавании на кафедрах гистологии, эмбриологии и цитологии, патологической анатомии и офтальмологии медицинских университетов и на медицинских факультетах классических университетов по курсу: глаукома, воспаление, нарушения кровообращения и лимфообращения.

Положения, выносимые на защиту

1. Выявленные, при использовании молекулярных маркеров эндотелоцитов лимфатических сосудов и электронной микроскопии, лимфатические структуры в цилиарном теле, в хориоидее, а также на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва свидетельствуют о наличии в органе зрения увеолимфатического пути оттока внутриглазной жидкости, структурные нарушения в котором участвуют в развитии глаукоматозного процесса.
2. Первичная открытоугольная глаукома проявляется местным хроническим воспалением в трабекулярной области, цилиарном теле и хориоидее.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в научно-педагогическую деятельность ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (кафедра патологической анатомии, в раздел: воспаление; кафедра офтальмологии, в

раздел: глаукома; в научно-практическую деятельность лаборатории клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции ЦНИЛ), в научно-практическую деятельность Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации» и в научную деятельность лаборатории ультраструктурных исследований НИИ клинической и экспериментальной лимфологии - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Апробация работы

Результаты диссертационного исследования доложены на Всероссийской научно-практической конференции с интернет-трансляцией «Фундаментальные исследования в офтальмологии» (Новосибирск, 2014); на Международном офтальмологическом конгрессе «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2015, 2017); на XII международной конференции «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям», посвященной 25-летию Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии (Новосибирск, 2016); на Всероссийском круглом столе с международным участием и интернет-трансляцией «Вопросы фундаментальной офтальмологии» (Новосибирск, 2016); на XIV ежегодном заседании Российского глаукомного общества (Москва, 2016); XIV юбилейной Всероссийской научной конференции с международным участием «Федоровские чтения – 2017» (Москва, 2017); на 7th World Glaucoma Congress (Хельсинки, 2017); VI съезде лимфологов России «Эпоха возрождения» (Москва, 2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 8 печатных работ, в том числе 4 публикации в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований.

Личный вклад

Автор принимал непосредственное участие в заборе, подготовке материалов и проведении морфологического, иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования. Автором самостоятельно проведены поиск и анализ литературы, статистическая обработка полученных данных, оформление диссертационной работы и автореферата.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 114 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка использованной литературы. Библиографический указатель включает 218 источников, из них 99 отечественных и 118 зарубежных. Работа иллюстрирована 25 рисунками.

Материал и методы исследования

Характеристика пациентов обследованных групп

Для решения поставленной в настоящем исследовании цели и задач были взяты фраг-

менты энуклеированных по медицинским показаниям глаз больных (n=28).

В основную группу вошли 17 глаз с диагнозом «терминальная стадия ПОУГ». В контрольную группу вошли 11 глаз с диагнозом «меланома хориоидеи». Энуклеация проводилась по поводу заболевания, не влияющего на структурную организацию глаза.

В качестве критерия для включения в основную группу являлось наличие у пациентов диагноза «терминальная стадия ПОУГ». Критерием для включения пациентов в контрольную группу был диагноз «меланома хориоидеи». Меланома хориоидеи располагалась постэкваториально, без распространения на смежные ткани. В качестве критериев исключения из обеих групп являлось наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, неоваскулярной глаукомы, увеита различной этиологии и локализации, тотального гемофтальма, аутоиммунных процессов любой локализации.

Все пациенты обратились Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» с различными жалобами с 2012-го по 2016-й год и в дальнейшем прошли хирургическое лечение в связи с наличием у них показаний к энуклеации глаза.

Также были обследованы 40 пациентов с верифицированным, на основании офтальмологического обследования, диагнозом развитой стадии ПОУГ, составившие основную группу.

Количество мужчин составило 18 (45%), женщин – 22 (55%), средний возраст пациентов равнялся $54,9 \pm 3,1$ лет. Все обследованные пациенты были с нормализованным внутриглазным давлением, что достигалось консервативным лечением с использованием противоглаукоматозных препаратов группы бета-адреноблокаторов (0,5% по 1 капле 2 раза в день), разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

В качестве значений сравнения определяемых в настоящем исследовании показателей слезной жидкости были использованы данные, полученные при обследовании 15 «практически здоровых» доноров аналогичного возраста, составивших контрольную группу.

В качестве критерия включения в основную группу являлось наличие у пациентов развитой стадии ПОУГ. Критерием включения в контрольную группу являлось отсутствие любой стадии ПОУГ.

В качестве критериев исключения из обеих групп являлось наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, увеита различной этиологии и локализации, тотального гемофтальма, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации, а также острых и обострений хронических воспалительных заболеваний любой локализации.

Офтальмологические методы исследования

Всем пациентам обследованных групп, поступившим для лечения в Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» МЗ РФ, диагноз ставился на основании стандартного офтальмологического обследования. Проводился общий и офтальмологический анамнез.

Определение остроты зрения проводилось по стандартной методике на автоматическом проекторе офтальмологических знаков НСР-7000 производства Nuvitz (Республика Корея). При

значительном снижении зрения (ниже 0,01) выполнялась приблизительная визометрия, определение способности пациента к счету пальцев на различном расстоянии от лица. При неспособности больных считать пальцы светоощущение проверяли с помощью ручного офтальмоскопа Beta 200 производства компании Heine (Германия).

Бинокулярная офтальмоскопия проводилась с использованием налобного офтальмоскопа HeineOmega 200 и линзы 20 Дптр, щелевой лампы KarlZeiss SL 115 Classic и линзы OcularMaxField 78 Дптр.

Сферопериметрия – определение полей зрения проводилось с использованием автоматического сферопериметра HFA-750 производства Humphrey, Zeiss (Германия). Учитывался индивидуальный порог яркостной чувствительности больного, наличие дефектов в поле зрения и их плотность, выраженные в логарифмических единицах.

Эхоофтальмография – ультразвуковой метод исследования структур глазного яблока выполнялся с использованием офтальмологического ультразвукового сканера в В-режиме Ellex фирмы Eye-Cubed (Австралия). При исследовании анализировалось состояние анатомических структур глазного яблока (положение оболочек, состояние преломляющих сред) и ретробульбарного пространства. Для детализации размеров и положения меланомы использовали цветной универсальный ультразвуковой сканер экспертного уровня LOGIQ e производства фирмы GE Healthcare (США).

Оптическая когерентная томография проводилась с использованием томографа RTVue 100 производства фирмы Optivue (США).

Измерение внутриглазного давления проводилось по бесконтактной методике с помощью автоматического тонометра NCT 800 (Rodenstock, Германия) или с помощью аппланационного тонометра А. Н. Маклакова грузом в 10 грамм по общепринятой методике.

Фоторегистрацию изменений глазного дна проводили с помощью фундус-камеры Visucam 500 CarlZeiss (Германия).

Иммуногистохимическое исследование

Для морфологического изучения биологические образцы фиксировали в 4% растворе параформальдегида, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и с использованием антител. Все этапы иммуногистохимической реакции (депарафинизация, демаскировка, инкубация с первичными антителами и т.д.) проводили согласно протоколам производителей антител. Использовали моноклональные антитела к маркерам эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 (Novocasa, Германия); моноклональные тела к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE -1 – (Abcam, Англия); Podoplanin (Monosan, Нидерланды) и Prox-1 (Covance, Германия); к маркеру рецептора фактора роста фибробластов FGFR - (Abcam, Англия). Полученные препараты тканей глаза изучали в световом микроскопе Leica DME и фотографировали с помощью компьютерной программы Avigion.

Электронно-микроскопическое исследование

Для исследования в электронном микроскопе образцы трабекулярного аппарата, цили-

арного тела, хориоидеи размером до 1мм^3 фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1% растворе OsO_4 на фосфатном буфере ($\text{pH}=7,4$), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм на ультратоме Leica UC7/FC7 (Германия/Швейцария), окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом LEICADME и выбирали необходимые участки тканей для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 70-100 нм, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400 (Япония).

Морфометрическое исследование

Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы ImageJ (WayneRasband, США). Микрофотографии морфометрировали при увеличении в 400 раз с использованием компьютерной программы Image J, в соответствии с рекомендациями (Weibel E.R., 1979; Автандилов Г.Г., 2002). Оценивали объемную плотность интерстициальных пространств, межклеточного матрикса, сосудов и мышечных элементов с использованием закрытой тестовой системы из 315 (15x21) точек, площадь тестовой системы составляла 22125 мкм^2 ($125\text{ мкм} \times 177\text{ мкм}$).

Забор слезной жидкости

У всех пациентов слеза набиралась микроканюлей из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку, замораживали при -70C и хранили в морозильной камере, до момента определения цитокинов. Стимуляция слезопродукции осуществлялась механическим раздражением рецепторных окончаний тройничного нерва в слизистой оболочке глаза.

Лабораторные методы исследования

Определение концентрации ИЛ-1 β в слезной жидкости

Определение концентрации интерлейкинов ИЛ-1 β , основного провоспалительного цитокина, повышение концентраций которого связано с активацией иммунного ответа по Т – helperному пути 1 типа, а также с активацией процессов воспаления, выполнялось с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «Цитокин» (С-Петербург) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Для определения концентрации ИЛ-1 β в анализируемых образцах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Концентрацию ИЛ-1 β выражали в пг/мл.

Определение концентрации матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) в слезной жидкости

Определение в слезной жидкости матричной металлопротеиназы (ММП-9) – представителя семейства внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать белки внеклеточного матрикса и участвующих в процессах пролиферации, регуляции синтеза цитокинов, – выполнялось методом иммуноферментного анализа на коммерческих тест-системах CUSABIO (КНР) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа реги-

стрировали на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Для определения концентрации ММР-9 в анализируемых образцах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Концентрацию ММР-9 выражали в нг/мл.

Определение концентрации трансформирующего фактора роста бета 2 (TGF- β 2) в слезной жидкости

Определение TGF- β 2 – цитокина, обладающего выраженной противовоспалительной и пролиферативной активностью, участвующего в процессах регуляции иммунного ответа, клеточного роста и дифференцировки, апоптозе, выполняли на коммерческих тест-системах производства DRG-diagnostics (Германия) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Для определения концентрации TGF- β 2 в анализируемых образцах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Концентрацию TGF- β 2 выражали в пг/мл.

Статистические методы исследования

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде таблицы и графиков. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 производства StatSoftInc. (USA). Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Данные в графиках представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя, m – ошибка средней. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p < 0,05$) (Гланц С., 1998).

Исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. N 323 ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 N 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015). У всех пациентов было получено информированное согласие на забор слезной жидкости, проведение операции, забор энуклеированного глаза, а также использование данных исследования в научных целях.

Результаты собственных исследований

Первым этапом настоящего исследования являлось изучение структуры цилиарного тела пациентов контрольной группы. Окрашивание препаратов глаза на маркеры эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 показало, что строма цилиарного тела равномерно пронизана большим количеством кровеносных капилляров, артериол и венул.

Наиболее крупные по размеру просветов сосуды расположены у основания цилиарных отростков. Форма просветов выявляемых кровеносных сосудов преимущественно округлая или эллипсоидная (рис.1а). При окрашивании препаратов глаза на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1 в обоих случаях наблюдали подобие трабекул вдоль мы-

шечных волокон цилиарного тела (рис. 1б). Обнаруженные вытянутые клетки, образующие каналы, преимущественно вдоль мышечного волокна цилиарного тела окрашивались на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1 (рис. 1б), не окрашивались на маркеры кровеносных сосудов CD31 и CD34 (рис. 1а) и не имели базальной мембраны. Они контактировали с коллагеновыми фибриллами (рис. 1в) и по структуре были сходны с отростками фибробластов. При электронно-микроскопическом анализе было выявлено, что вдоль мышечных волокон цилиарного тела располагаются клетки, которые имеют небольшое содержание оргanelл в вытянутых узких участках цитоплазмы, межклеточные контакты типа наложения и открытые межклеточные контакты (рис. 1в,г).

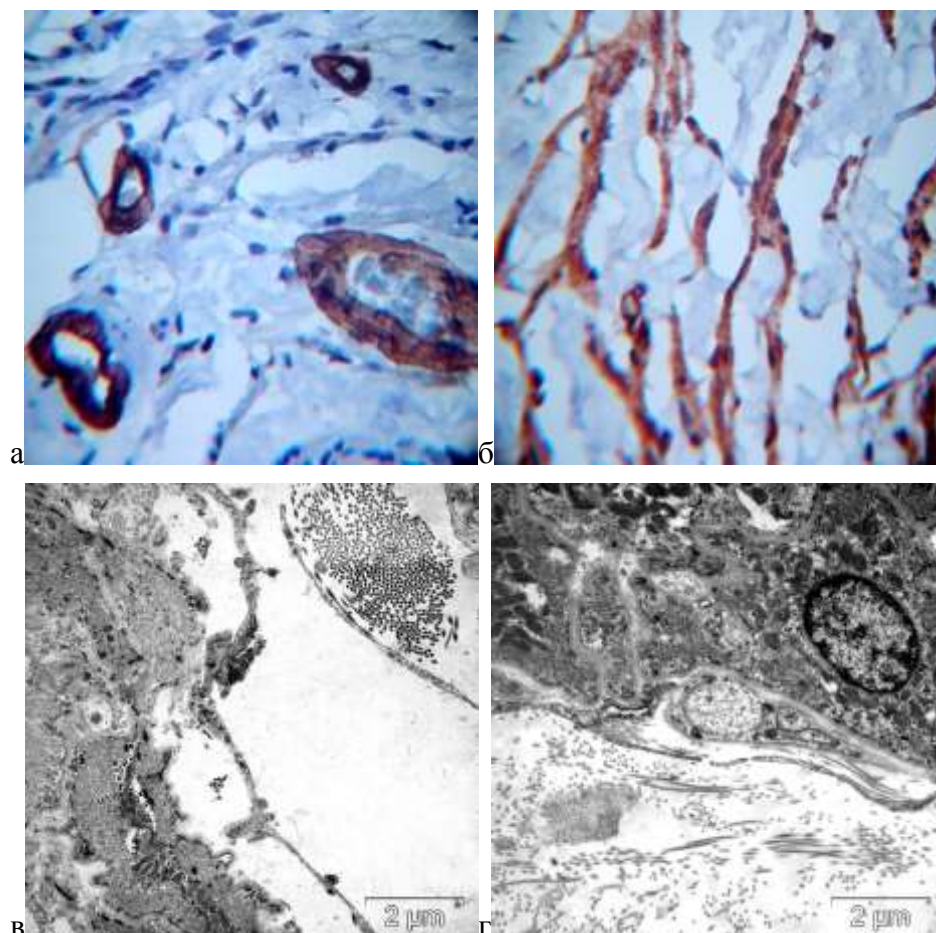


Рис. 1. Структура цилиарного тела в контрольной группе. Увеличение: а,б – х400; в,г – х8000.

- а) CD31+ – кровеносные сосуды в цилиарном теле глаза человека.
- б) Prox-1+ – лимфатические каналы вдоль пучков мышечных волокон цилиарного тела.
- в) Лимфатический капилляр около гладкомышечного волокна цилиарного тела.
- г) Открытые контакты в структуре лимфатического капилляра в цилиарном теле.

Развитие глаукоматозного процесса приводило к ряду изменений в структуре цилиарного тела. Наблюдалось значительное расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов (рис. 2а).

Иммуногистохимическое окрашивание препаратов цилиарного тела на Podoplanin выявило слабую степень экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов при первичной открытоугольной глаукоме (рис. 2б). Данный факт мог быть следствием нарушения структур-

ной целостности мембран эндотелиальных клеток лимфатических капилляров при развитии глаукомы (рис. 2в).

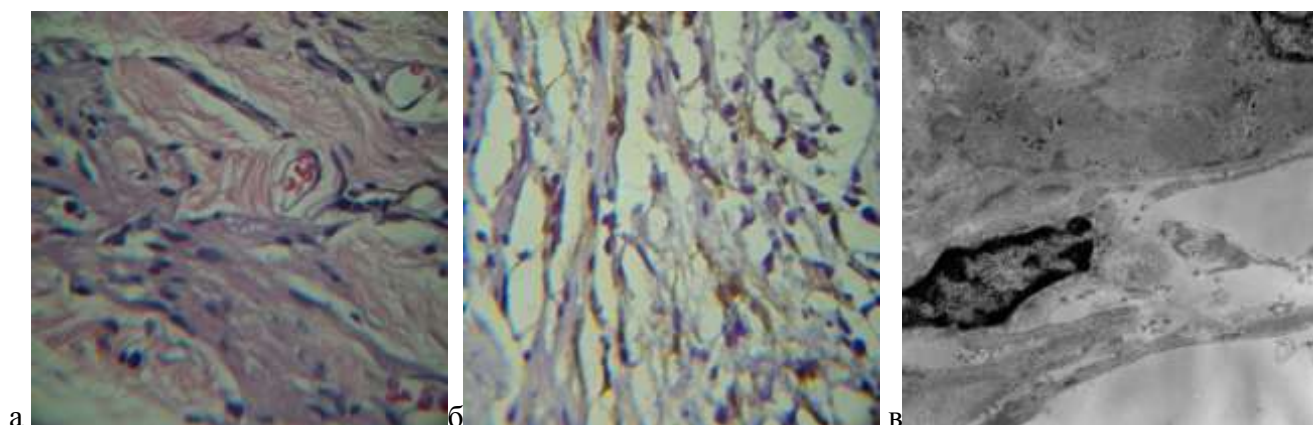


Рис.2. Цилиарное тело при терминальной стадии ПОУГ. Увеличение: а, б – х400. в – х8000.

а) Расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов. Окраска гематоксилином и эозином.

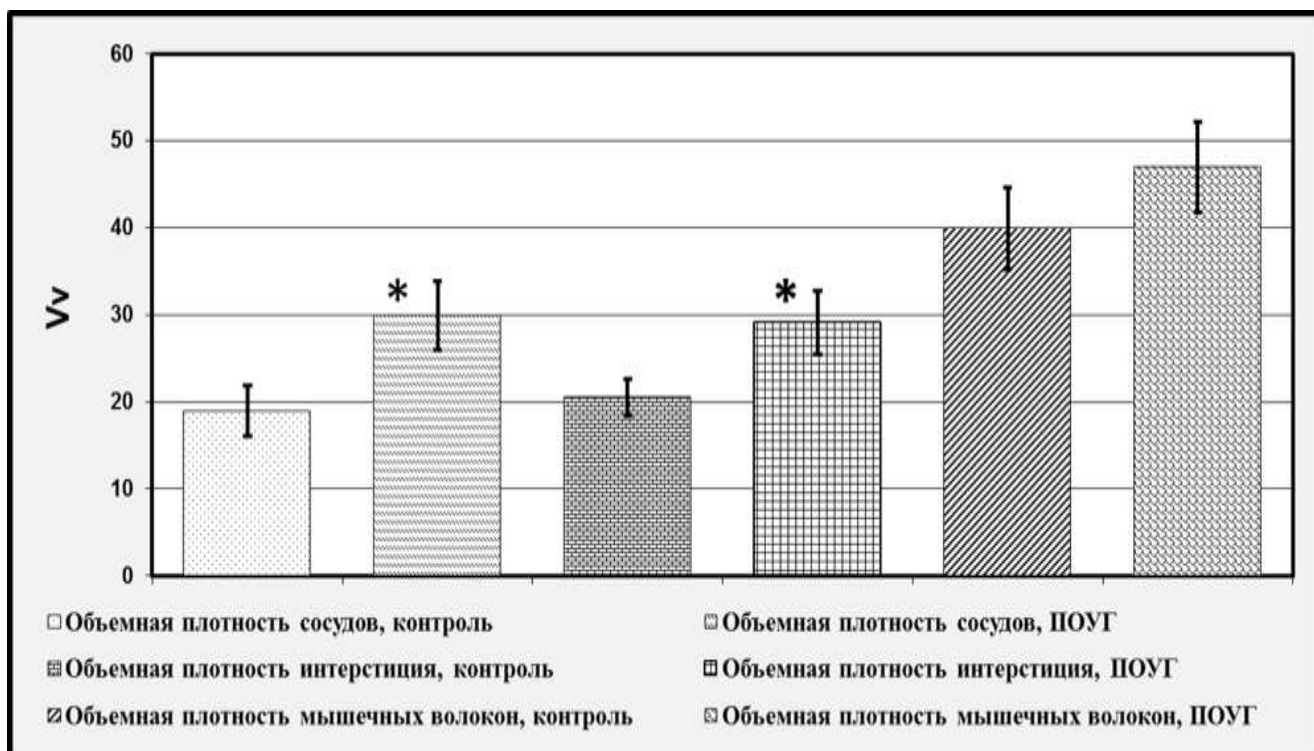
б) Слабая степень экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin. Иммуногистохимическое окрашивание на Podoplanin.

в) Нарушение структурной целостности мембран эндотелиальных клеток лимфатического капилляра.

Морфометрический анализ структуры цилиарного тела при терминальной стадии ПОУГ позволил выявить ряд изменений (рис. 3). Объемная плотность сосудов в цилиарном теле в контрольной группе составила $18.9 \pm 2.9 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 54.5% и составило $29.2 \pm 3.9 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$).

Объемная плотность интерстиция в цилиарном теле в контрольной группе составила $20.5 \pm 2.1 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 42.1% и составило $29.1 \pm 3.6 \text{ мкм}^2$, что было достоверно больше значения показателя в группе сравнения и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$). При оценке объемной плотности мышечных волокон была установлена тенденция к её нарастанию при терминальной стадии ПОУГ ($39.9 \pm 4.7 \text{ мкм}^2$ против $47.0 \pm 5.2 \text{ мкм}^2$), однако достоверности различий выявлено не было.

Таким образом, с помощью иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования в цилиарном теле глаза человека выявлены лимфатические капилляры. Кроме того, показано наличие структурированных интерстициальных пространств – тканевых щелей, ограниченных коллагеновыми волокнами и фибробластами во всех структурах переднего сегмента глаза человека. По терминологии Földi M. (1999), тканевые щели, содержащие тканевую жидкость, являются путями несосудистой микроциркуляции в интерстиции – прелимфатиками. Они находятся вблизи кровеносных сосудов, располагаются экстра- или интраадвентициально, либо окружают лимфатические капилляры. Следовательно, тканевая жидкость течет по структурированным интерстициальным пространствам – прелимфатикам.



* достоверно отличается от значений в контрольной группе ($p < 0.05$)

Рис. 3. Объемные плотности структур в цилиарном теле у пациентов с терминальной стадией ПОУГ, относительно контрольной группы.

При окрашивании образцов хориоидеи пациентов контрольной группы гематоксилином и эозином в структуре хориокапиллярной пластинки выявляли пигментные клетки, кровеносные капилляры, коллагеновые волокна, фибробласты и каналы, похожие на лимфатические (рис. 4а).

Иммуногистохимическое окрашивание на маркер эндотелия кровеносных сосудов CD34 подтвердило, что лежащие рядом со слоем пигментных клеток сосуды являются кровеносными капиллярами (рис. 4б).

При иммуногистохимическом окрашивании на маркеры эндотелия лимфатических сосудов Prox-1, LYVE-1 и Podoplanin окрашивались клетки и их отростки, лежащие вдоль пигментных клеток и образующие каналы рядом с кровеносными капиллярами и сосудами. Следовательно, данные каналы можно отнести к лимфатическим (рис. 4в, г, д).

При иммуногистохимическом окрашивании на маркеры эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin в области границы склеры и хориоидеи позволило выявить там наличие лимфатических структур (рис. 4е).

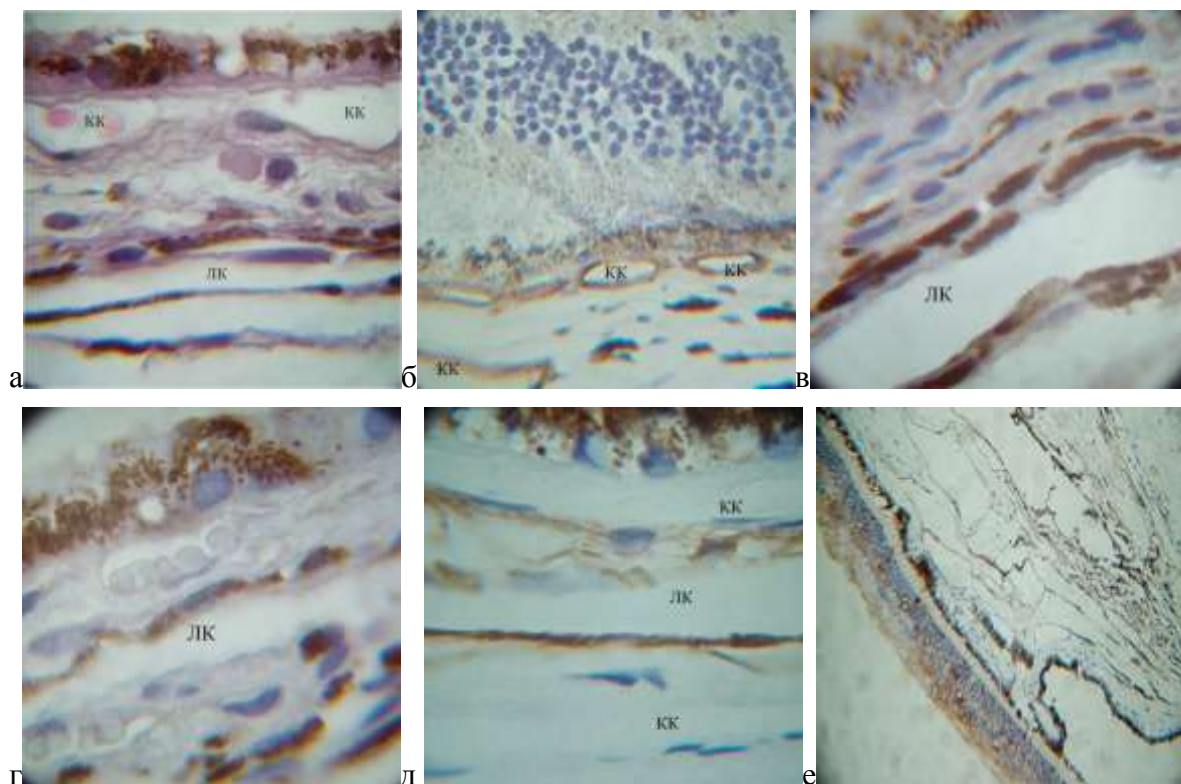


Рис. 4. Сосудистое русло хориоидеи в контрольной группе. Увеличение $\times 900$.

а) Структура хориокапиллярной пластинки. КК – просвет кровеносного капилляра, ЛК – просвет лимфатического канала. Окраска гематоксилином и эозином.

б) CD34+ – кровеносные сосуды. ИГХ выявление маркера кровеносных сосудов CD34.

в) Prox-1+ – лимфатический сосуд. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Prox-1.

г) LYVE-1+ – лимфатический сосуд. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов LYVE-1.

д) Podoplanin+ – лимфатический сосуд. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin.

е) Podoplanin+ – лимфатические сосуды на границе склеры и хориоидеи. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin.

При исследовании в электронном микроскопе было выявлено, что строма хориокапиллярной пластинки пронизана пучками коллагеновых волокон, которые связаны с миофибробластами и пигментными клетками и, вероятно, играют роль каркаса, препятствующего значительному изменению размера данной части оболочки (рис. 5а, б).

Электронно-микроскопическое исследование подтвердило, что лимфатические каналы располагаются между кровеносными капиллярами и кровеносными сосудами и образованы фибробластами, их отростками, миофибробластами и сопровождаются пигментными клетками (рис. 5в).

В переходной зоне между сосудистой оболочкой и склерой отмечали большие пространства, ограниченные удлинёнными клетками – так называемые лакуны, которые предположительно рассматривают как лимфатические структуры. Лимфатические лакуны выстланы фибробластоподобными клетками, которые неплотно контактируют между собой и не связаны пуч-

ками якорных филаментов, которые бы ограничивали значительные изменения размеров лакун (рис. 5г).

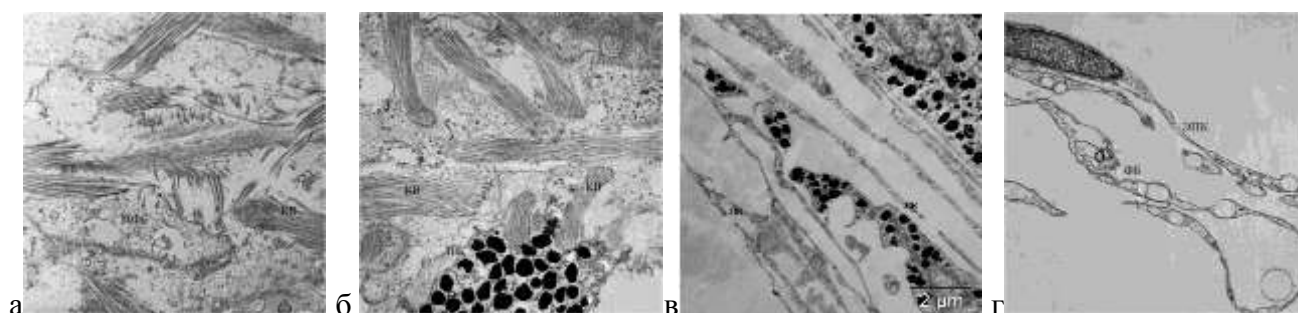


Рис. 5. Структура стромального каркаса хориоидеи в контрольной группе. КВ – пучки якорных коллагеновых волокон, МФБ – миофибробласт, ПГ – пигментная клетка. Увеличение $\times 8000$.

а) разнонаправленное расположение пучков коллагеновых волокон.

б) якорные коллагеновые волокна вокруг пигментной клетки.

в, г) лимфатические каналы (ЛК) и структура лимфатических лакун хориоидеи (ЭПК – эндотелиоподобная клетка, ФБ – фибробласт).

Учитывая предположение о существовании оттока внутриглазной жидкости по оболочкам зрительного нерва, представляло интерес выявление лимфатических структур на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва в контрольной группе. Было установлено, что Подопланин+-окрашенные структуры визуализировались на границе между склерой и зрительным нервом – как в склере, так в области решетчатой пластинки (рис. 6а, б, в, г).

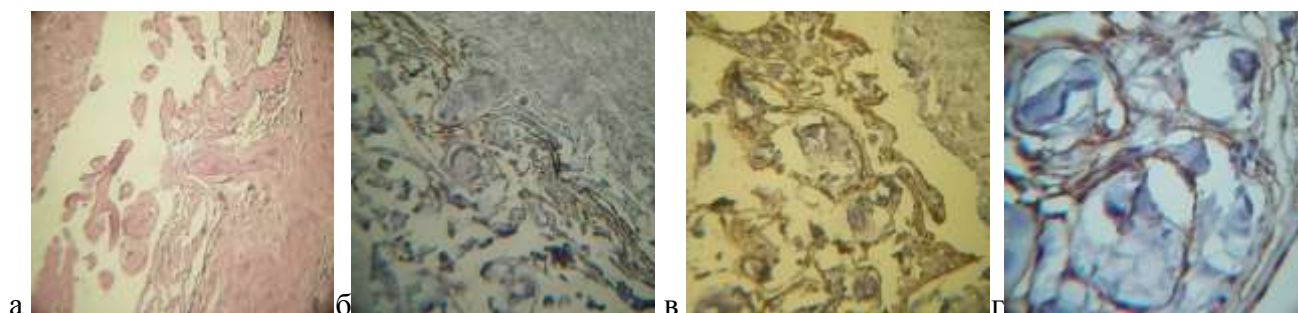


Рис. 6. Структура области границы склеры и решетчатой пластинки в контрольной группе. Увеличение: а-в $\times 100$; г – $\times 400$. а - Окраска гематоксилином и эозином; б, в, г - Окраска на Podoplanin+.

При изучении материалов, полученных от пациентов с терминальной стадией ПОУГ в хориоидеи, были получены следующие данные.

Было установлено, что при терминальной стадии ПОУГ возрастали просветы кровеносных сосудов и лимфатических каналов (рис. 7).

Отмечалось набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств (рис. 8а), набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками (рис. 8б), а также набухание клеток, выстилающих лимфатические каналы и увеличение размеров интерстиция (рис. 8в, г)

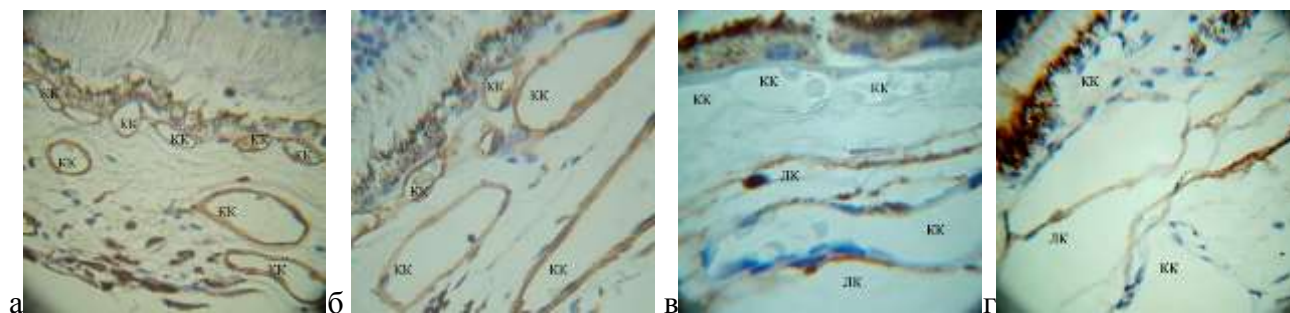


Рис.7. Структура хориоидеи в контрольной группе и при терминальной стадии ПОУГ. ЛК – лимфатический канал, КК – кровеносный капилляр. Увеличение x400.

- а) Хориоидея в контрольной группе. ИГХ выявление маркера кровеносных сосудов CD34.
- б) Терминальная стадия ПОУГ. Расширение просветов кровеносных сосудов. ИГХ выявление маркера кровеносных сосудов CD34.
- в) Хориоидея в контрольной группе. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin.
- г) Терминальная стадия ПОУГ. Расширение просвета лимфатического канала. ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin.

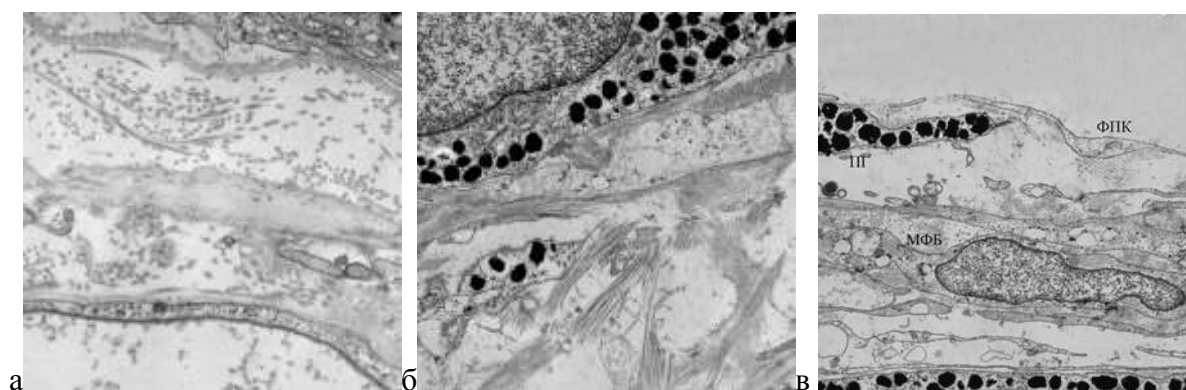


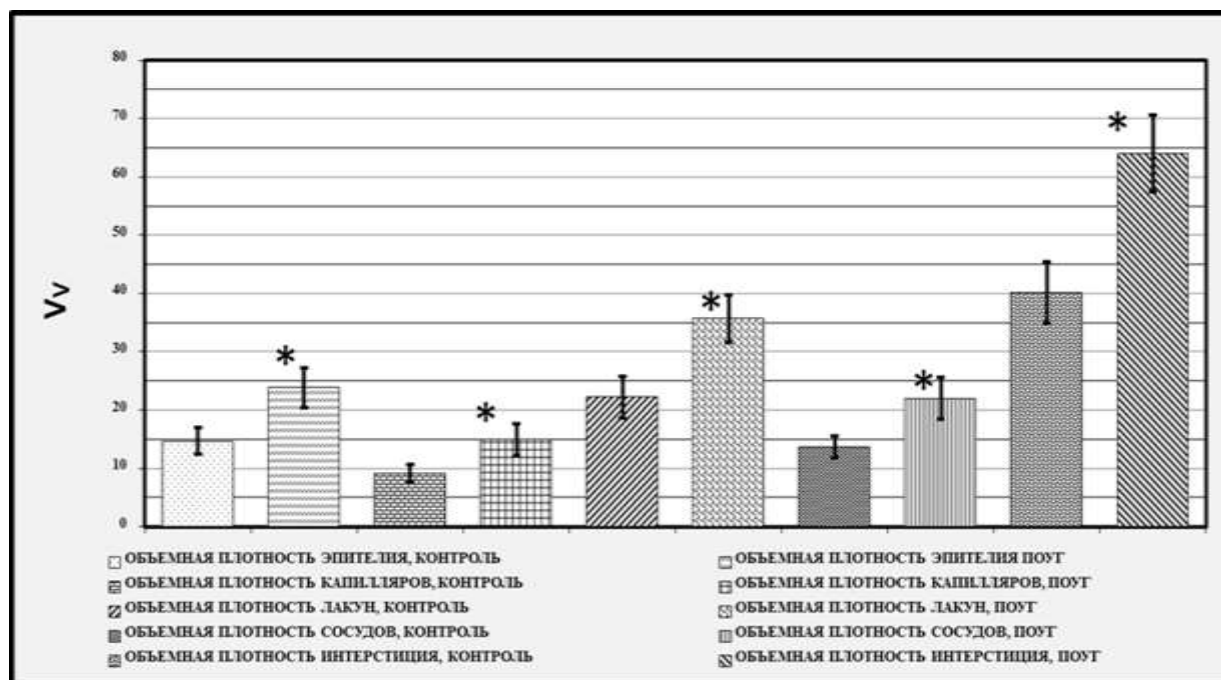
Рис. 8. Структура лимфатических каналов хориоидеи при терминальной стадии ПОУГ. Увеличение x8000.

- а) Набухание перикапиллярных пространств.
- б) Нарушение связи якорных коллагеновых волокон с пигментными клетками.
- в) Увеличение интерстициальных пространств и набухание клеток, выстилающих лимфатический канал: фибробластоподобной (ФПК), пигментной клетки (ПГ) и миофибробласта (МФБ).

Морфометрический анализ структуры хориоидеи при терминальной стадии ПОУГ позволил выявить ряд изменений (рис. 9).

Объемная плотность эпителия в контрольной группе составила $14.8 \pm 2.3 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60.8% и составило $23.8 \pm 3.4 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$). Объемная плотность капилляров в контрольной группе составила $9.1 \pm 1.6 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 63.7% и составило $14.9 \pm 2.8 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$). Объемная плотность лакун в контрольной группе со-

ставила $22.2 \pm 3.5 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60.8% и составило $35.7 \pm 4.1 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$).



* достоверно отличается от значений в контрольной группе ($p < 0.05$)

Рис. 9. Объемные плотности структур хориоидеи у пациентов с терминальной стадией ПОУГ, относительно контрольной группы.

Объемная плотность сосудов в контрольной группе составила $13.7 \pm 1.9 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60.4% и составило $22.0 \pm 3.6 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$). Объемная плотность сосудов в контрольной группе составила $40.2 \pm 5.3 \text{ мкм}^2$, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 59.2% и составило $64.0 \pm 6.6 \text{ мкм}^2$, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0.05$).

Таким образом, было установлено увеличение толщины хориоидеи более чем на 60% при терминальной стадии ПОУГ по сравнению с контрольной группой, что было следствием отека и набухания компонентов стромы хориоидеи. При этом пропорционально увеличивались объемные плотности структур сосудистой оболочки, таких как эпителиальный слой, капилляры, сосуды и интерстициальные пространства.

Следующим этапом настоящего исследования было изучение трабекулярного аппарата глаза с использованием методов световой и электронной микроскопии.

В результате проведенных исследований было показано, что в отличие от данных, полученных при изучении трабекулярной зоны глаза человека пациентов контрольной группы, представленных на рис. 10а, при терминальной стадии ПОУГ были выявлены изменения, которые можно расценить как последствия воспалительного процесса в переднем отделе глаза. Об

этом свидетельствует наличие в этой области клеток воспаления и воспалительной инфильтрации (рис. 10б).

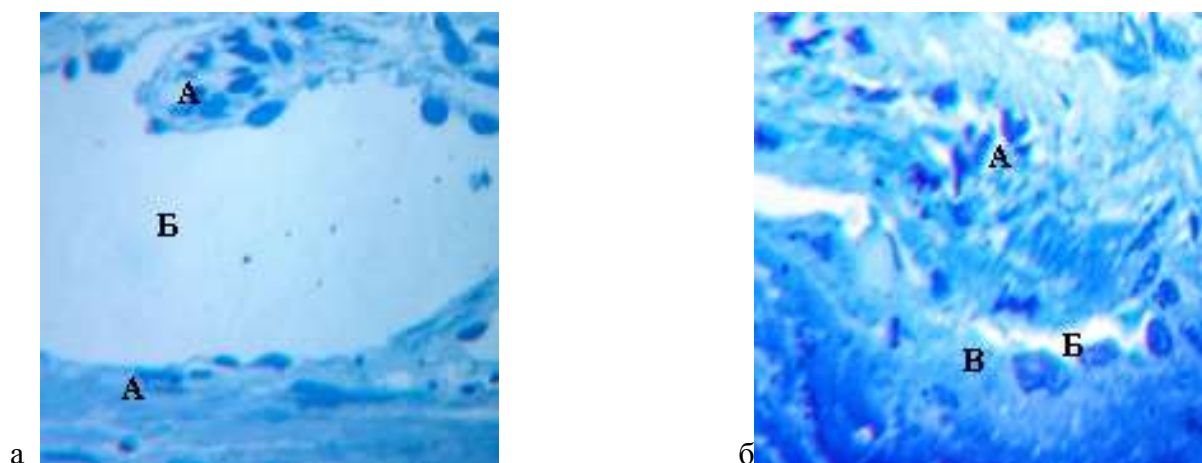


Рис.10. Структурная организация трабекулярной сети глаза человека. Окраска толуидиновым синим. Увеличение x400.

а) в контрольной группе (А – эндотелий, Б – просвет шлеммова канала).

б) при терминальной стадии ПОУГ (А – клетки воспаления, Б – шлеммов канал, В – эндотелий).

Также была визуализирована нерегулярность, разнонаправленность, набухание и слияние соединительнотканых волокон трабекулярной сети (рис. 11б)

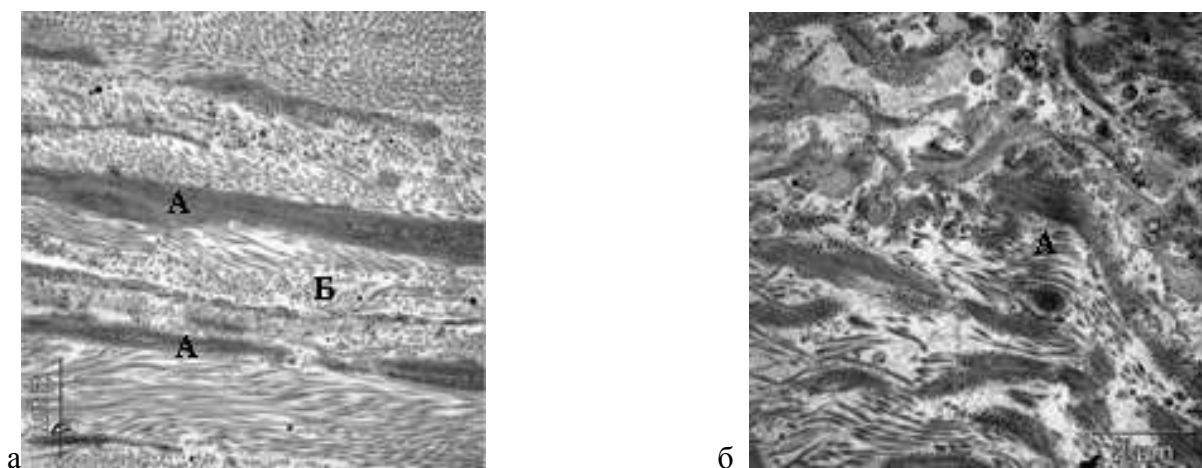


Рис. 11. Ультраструктурная организация трабекулярной сети глаза. Увеличение x15000.

а) в контрольной группе (А – коллагеновые и эластические волокна, Б – фибриллы).

б) при терминальной стадии ПОУГ (А – фибриллы).

Выявленные в трабекулярной сети нарушения способны за счет токсичности и реактивности продуктов метаболизма приводить к морфологическим и ультраструктурным изменениям, о чем свидетельствуют установленная нерегулярность, разнонаправленность, набухание и слияние соединительнотканых волокон, в дальнейшем приводящих к сужению просвета шлеммова канала и нарушению оттока внутриглазной жидкости.

При электронно-микроскопическом исследовании в структуре стенки шлеммова канала при терминальной стадии ПОУГ было выявлено большое количество депозитов внеклеточного материала в подэндотелиальном слое, возрастание количества лизосом и набухание митохон-

дрий в эндотелии, а также возрастание плотности межэндотелиальных контактов, в отличие от полуоткрытых в норме (рис. 12б, 13б).

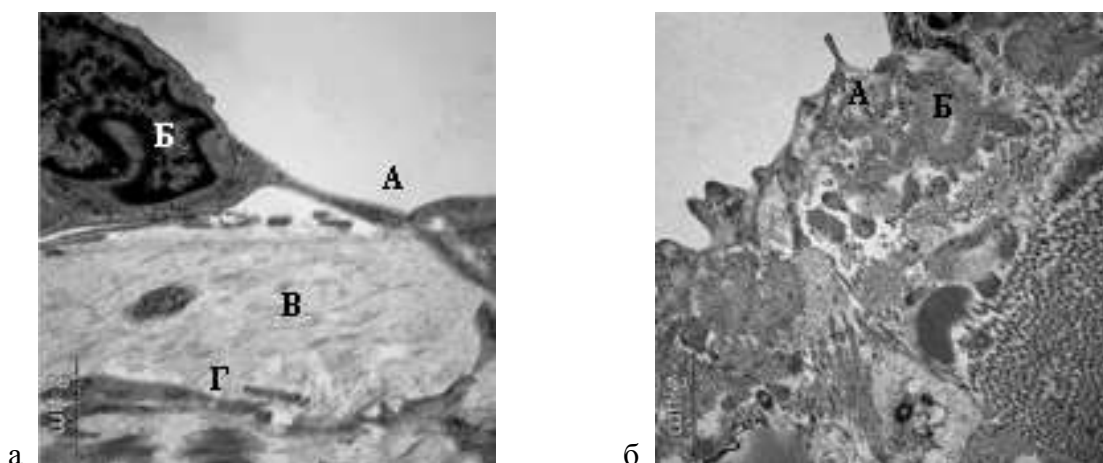


Рис. 12. Структура стенки шлеммова канала трабекулярной сети глаза человека. Увеличение $\times 20000$.

а) в контрольной группе (А – межклеточный контакт, Б – эндотелий, В – подэндотелиальный слой, Г – отсутствие депозитов).

б) при терминальной стадии ПОУГ (А – эндотелий, Б – подэндотелиальный слой с депозитами).

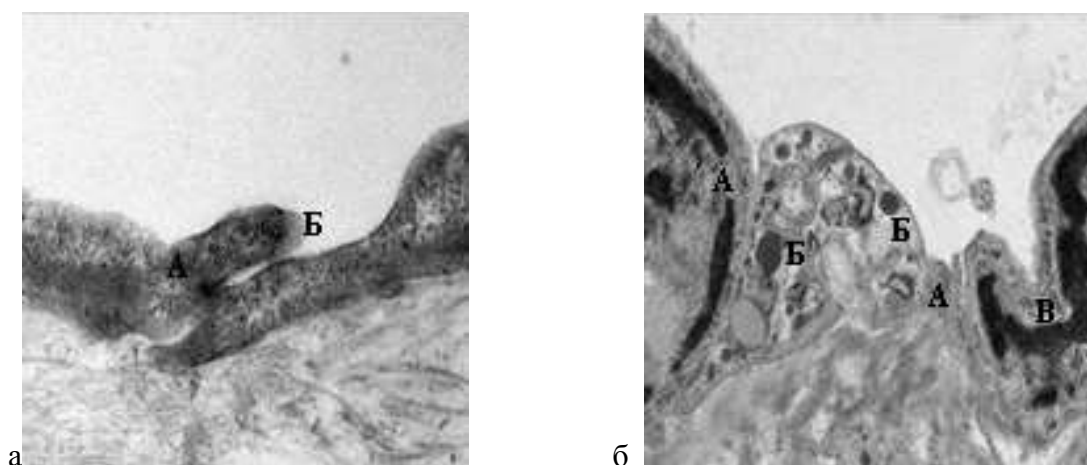


Рис. 13. Структура стенки шлеммова канала трабекулярной сети глаза человека. Увеличение $\times 20000$.

а) в контрольной группе (А – эндотелий, Б – приоткрытый межклеточный контакт).

б) при терминальной стадии ПОУГ (А – плотный контакт, Б – лизосомы, В – эндотелий).

Для оценки активности воспалительного процесса было проведено исследование содержания в слезной жидкости цитокинов ИЛ-1 β , MMP-9 и TGF- β 2 40 пациентов с развитой стадией ПОУГ и был выявлен ряд закономерностей.

При оценке содержания ИЛ-1 β в слезной жидкости пациентов с ПОУГ, составивших основную группу, было показано, что средняя его концентрация была равна 60.7 ± 5.1 пг/мл, что более чем в 3.5 раза превышала значения показателя в слезной жидкости пациентов в контрольной группе (16.2 ± 3.4 пг/мл) и достоверно от нее отличалась ($p < 0.01$).

При оценке содержания в слезной жидкости пациентов с ПОУГ ММР-9 было установлено, что средняя его концентраций была равна 1.08 ± 0.15 нг/мл, что более чем в 2 раза превышало значения изучаемого показателя в слезной жидкости пациентов в контрольной группе (0.5 ± 0.07 нг/мл) и достоверно от него отличалось ($p < 0.01$).

Значимый интерес представляло определение содержание трансформирующего фактора роста $\beta 2$, поскольку данный цитокин обладает выраженной противовоспалительной активностью и способностью влиять на процессы пролиферации и фиброгенеза. При определении содержания TGF- $\beta 2$ в слезной жидкости пациентов с ПОУГ средняя его концентраций составила 3863 ± 489 пг/мл, что более чем в 5.7 раза превышало значения изучаемого показателя в слезной жидкости пациентов в контрольной группе (672 ± 35 пг/мл) и достоверно от него отличалось ($p < 0.001$).

Установленные иммунометаболические нарушения, возникающие в механизмах развития глаукоматозного процесса, способны приводить к морфологическим изменениям, обнаруженные при электронно-микроскопическом исследовании. Полученные данные также подтверждают сделанное заключение о развитии воспалительно-деструктивного процесса в тканях, окружающих шлеммов канал, и нарушении оттока ВГД.

Выводы

1. При использовании молекулярных маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов Podoplanin, LYVE-1 и Prox-1 в цилиарном теле, хориоиде и на границе между склерой и решетчатой пластинкой зрительного нерва глаз пациентов, не имеющих признаков первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, были выявлены лимфатические структуры.
2. При первичной открытоугольной глаукоме в цилиарном теле в сравнении с данными пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, было обнаружено расширение интерстициальных пространств, увеличение просветов венозных сосудов, а также уменьшение количества клеток, несущих маркер эндотелия лимфатических сосудов, свидетельствующих об их повреждении, отеке и воспалении в изучаемой области.
3. При первичной открытоугольной глаукоме в хориоиде, в сравнении с данными пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, было выявлено расширение просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов, набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками, что свидетельствует об отеке и наличии местного хронического воспаления в изучаемой области.
4. При первичной открытоугольной глаукоме в области трабекулярной зоны и шлеммова канала в сравнении с данными пациентов без первичной открытоугольной глаукомы и структурных нарушений в изучаемой области, составивших контрольную группу, обнаружены морфологиче-

ские признаки местного хронического воспаления, что может быть одним из основных факторов патогенеза заболевания.

5. Выявленные элементы лимфатической системы свидетельствуют о наличии в органе зрения увеолимфатического пути оттока внутриглазной жидкости, структурные изменения в котором лежат в основе нарушения дренажной функции глаза при первичной открытоугольной глаукоме.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Черных В.В. Роль лимфатической системы в увеосклеральном оттоке внутриглазной жидкости / Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Трунов А.Н., Ходжаев Н.С., Дружинин И.Б., Еремина А.В., Пожидаева А.А., Коненков В.И. // **Офтальмохирургия 2015.- № 2. – С. 74-79.**
2. Черных В.В. Значимость ультраструктурных и иммуновоспалительных изменений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / Черных В.В., Бгатова Н.П., Еремина А.В., Дружинин И.Б., Ермакова О.В., Пожидаева А.А., Трунов А.Н. // **Аллергология и иммунология – 2015.-Т.16,№4.-С.388.**
3. Черных В.В. Лимфатические структуры в цилиарном теле и хориоидеи глаза человека / Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Ноговицина С.Р., Топорков И.А., Еремина А.В., Трунов А.Н., Коненков В.И. // **Современные технологии в офтальмологии. - 2016. - Выпуск № 3(11). – С.268-270**
4. Трунов А.Н. Новые подходы к оценке выраженности воспалительных нарушений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / Трунов А.Н., Бгатова Н.П., Еремина А.В., Дружинин И.Б., Пожидаева А.А., Трунова Л.А., Черных В.В. // **Аллергология и иммунология, 2016.- Т.17, № 2. - С. 107-111.**
5. Черных В.В. Структурные элементы лимфатических путей оттока внутриглазной жидкости в хориоидеи глаза человека в норме и при глаукоме / Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Трунов А.Н., Ходжаев Н.С., Ноговицына С.Р., Еремина А.В., Коненков В.И. // **Офтальмохирургия.- 2016.- № 3. – С. 11-16.**
6. Черных В.В. Морфо-структурные изменения в собственно сосудистой оболочке глаза человека при первичной открытоугольной глаукоме / Черных В.В., Бгатова Н.П., Еремина А.В., Ноговицина С.Р., Трунов А.Н. // **Современные технологии в офтальмологии. - 2017. - № 3 (16). – С. 92-94.**
7. Черных В.В. Lymphatics in the choroid of the human eye / Chernykh V., Bgatova N., Eremina A., Trunov A. // **Abstract book 7th World Glaucoma Congress Helsinki, June 28–July 1, 2017.- P.174.**
8. Черных В.В. Структурные элементы лимфатической системы в формировании дренажных структур глаза и механизмах развития первичной открытоугольной глаукомы / Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Еремина А.В., Коненков В.И., Трунов А.Н. // **Тезисы VI Съезда Лимфологов России «Эпоха возрождения». Приложение к журналу ЛИМФА. - №4. – 2017. – С.49-50.**

Список используемых сокращений

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

ВГД – внутриглазное давление

ВГЖ – внутриглазная жидкость

ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β

ММР-9 –матриксная металлопротеиназа-9

TGF- β 2 – трансформирующий фактор роста бета 2

ИГХ – иммуногистохимия

Соискатель



А.В. Еремина