

## ПРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ И РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ В СЛЁЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ С РАЗЛИЧНЫМ ГИПОТЕНЗИВНЫМ ЭФФЕКТОМ ПОСЛЕ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ГЛУБОКОЙ СКЛЕРЭКТОМИИ

### РЕЗЮМЕ

Мальшева Ю.В.<sup>1</sup>,  
Юрьева Т.Н.<sup>1, 2, 3</sup>,  
Волкова Н.В.<sup>1, 2, 3</sup>,  
Курсакова Ю.В.<sup>1</sup>,  
Колесников С.И.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337, Россия)

<sup>2</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

<sup>4</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Мальшева Юлия Витальевна,  
e-mail: mal-julia@bk.ru

**Цель работы.** Оценить динамику содержания цитокинов в слезе у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) в различные сроки после непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ) во взаимосвязи с функциональным состоянием путей оттока.

**Материалы и методы.** Проведено проспективное обследование 65 пациентов с развитой стадией ПОУГ после НГСЭ. В зависимости от течения послеоперационного периода и условий достижения гипотензивного эффекта НГСЭ все пациенты разделены на три группы: группа 1 – с оптимальным гипотензивным эффектом НГСЭ; группа 2 – с условным гипотензивным эффектом НГСЭ; группа 3 – с отсутствием гипотензивного эффекта после НГСЭ. Проводилось исследование внутриглазного давления и концентраций TGF- $\beta$ , MMP-9, ИЛ-6, ИЛ-8, VEGF-A (121 и 165) в слезе методом иммуноферментного анализа в до- и послеоперационном периоде, а также оптическая когерентная томография путей оттока и ультраструктурный анализ ткани фильтрационных подушек.

**Результаты.** В группе 1 определены минимальные исходные концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и TGF- $\beta$  слезы и их умеренное повышение в послеоперационном периоде; высокие концентрации MMP-9 на всех этапах и нарастание VEGF-A ко 2-му месяцу после НГСЭ. В группе 2 отмечен высокий уровень VEGF-A слезы перед и через 2 месяца после НГСЭ; нарастание TGF- $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 слезы в раннем периоде с подавлением в позднем, а также повышение MMP-9 в раннем послеоперационном периоде. Для группы 3 характерны максимальные концентрации TGF- $\beta$  и ИЛ-8 слезы исходно и в раннем послеоперационном периоде, подавление MMP-9 слезы через 2 недели и VEGF-A через 2 месяца после НГСЭ.

**Выводы.** Исходно высокие концентрации ИЛ-6, ИЛ-8, TGF- $\beta$  в слезе и подавление MMP-9 и VEGF-A в послеоперационном периоде способствуют хирургическому неукладу НГСЭ.

**Ключевые слова:** непроникающая глубокая склерэктомия, трансформирующий фактор роста  $\beta$ , TGF- $\beta$ , матриксная металлопротеиназа 9, MMP-9, интерлейкин 6, ИЛ-6, интерлейкин 8, ИЛ-8, VEGF-A (121 и 165), цитокины в слезной жидкости, внеклеточный матрикс

**Для цитирования:** Мальшева Ю.В., Юрьева Т.Н., Волкова Н.В., Курсакова Ю.В., Колесников С.И. Проспективная оценка концентрации цитокинов и регуляторных белков в слезной жидкости пациентов с открытоугольной глаукомой с различным гипотензивным эффектом после непроникающей глубокой склерэктомии. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 170-178. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.16

Статья поступила: 27.01.2023

Статья принята: 03.04.2023

Статья опубликована: 05.05.2023

## PROSPECTIVE ASSESSMENT OF CYTOKINES AND REGULATORY PROTEINS CONCENTRATION IN THE TEAR FLUID OF POAG PATIENTS WITH VARIOUS HYPOTENSIVE EFFECTS AFTER NON-PENETRATING DEEP SCLERECTOMY

Malisheva J.V.<sup>1</sup>,  
Iureva T.N.<sup>1,2,3</sup>,  
Volkova N.V.<sup>1,2,3</sup>,  
Kursakova J.V.<sup>1</sup>,  
Kolesnikov S.I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontova str. 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

<sup>4</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Julia V. Malisheva**,  
e-mail: mal-julia@bk.ru

### ABSTRACT

**The aim.** To assess the dynamics of cytokine content in tear fluid of primary open-angle glaucoma (POAG) patients at various terms after non-penetrating deep sclerectomy (NPDS) in relation to the functional state of the outflow tracts.

**Material and methods.** We carried out prospective examination of 65 patients with advanced stage of primary open-angle glaucoma after NPDS. Depending on the course of the postoperative period and the conditions for achieving the hypotensive effect of NPDS, all patients were divided into three groups: group 1 – with the optimal hypotensive effect; group 2 – with the conditional hypotensive effect; group 3 – with no hypotensive effect after NPDS. The intraocular pressure and the concentration of TGF- $\beta$ , MMP-9, IL-6, IL-8, VEGF-A (121 and 165) in the tear fluid were studied using ELISA method in pre- and postoperative period. We studied the outflow tracts using optical coherence tomography and carried out ultrastructural analysis of filtering blebs tissue.

**Results.** In group 1, the minimum initial concentrations of IL-6, IL-8 and TGF- $\beta$  in the tear fluid and their moderate increase in the postoperative period; high concentrations of MMP-9 at all stages and an increase in VEGF-A by 2 months after NPDS were registered. In group 2, there was a high level of VEGF-A in the tear fluid before and 2 months after NPDS, an increase in TGF- $\beta$ , IL-6 and IL-8 in the tear fluid in the early period with their suppression in the late period, as well as an increase in MMP-9 in the early postoperative period. Group 3 had maximum concentrations of TGF- $\beta$  and IL-8 in the tear fluid initially and in the early postoperative period, suppression of MMP-9 in the tear fluid 2 weeks after and of VEGF-A 2 months after NPDS.

**Conclusion.** Initially high concentrations of IL-6, IL-8, and TGF- $\beta$  in the tear fluid and the suppression of MMP-9 and VEGF-A in the postoperative period contribute to the surgical failure of the NPDS.

**Key words:** non-penetrating deep sclerectomy, transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ , matrix metalloproteinase 9, MMP-9, interleukin 6, IL-6, interleukin 8, IL-8, VEGF-A (121 and 165), cytokines in the tear fluid, extracellular matrix

Received: 27.01.2023  
Accepted: 03.04.2023  
Published: 05.05.2023

**For citation:** Malisheva Yu.V., Iureva T.N., Volkova N.V., Kursakova J.V., Kolesnikov S.I. Prospective assessment of cytokines and regulatory proteins concentration in the tear fluid of POAG patients with various hypotensive effects after non-penetrating deep sclerectomy. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 170-178. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.16

## АКТУАЛЬНОСТЬ

В пошаговом алгоритме лечения первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) антиглаукомные операции (АГО), выполняемые с целью нормализации внутриглазного давления (ВГД), рассматриваются как этап, следующий за медикаментозной гипотензивной терапией в случае её недостаточной эффективности.

В то же время основным недостатком операций фильтрующего и фистулизирующего типов является избыточное рубцевание в области хирургической травмы, что нарушает отток внутриглазной жидкости (ВГЖ) по вновь созданным путям. Этот процесс стимулируется профиброгенными и провоспалительными регуляторными белками [1]. При этом отклонения в составе влаги передней камеры у пациентов с глаукомой, в частности увеличение содержания активных форм трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ , transforming growth factor  $\beta$ ), а также фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ ), интерлейкинов (ИЛ) 6 и 8, способствуют фиброгенезу [2, 3]. В свою очередь известно, что снижение активности матричных металлопротеиназ (ММР, matrix metalloproteinase) влечёт за собой нарушение деградации компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) [4].

Помимо факторов, находящихся во влаге передней камеры, на раневые процессы в области АГО оказывают влияние регуляторные белки (РБ) и цитокины, экспрессируемые клетками конъюнктивальной ткани в ответ на хирургическую травму [5]. Кроме того, субклиническое воспаление конъюнктивы, которое зачастую обусловлено длительным применением некоторых антиглаукомных препаратов, также сопровождается моноцитарно-макрофагальной инфильтрацией тканей и экспрессией факторов роста и провоспалительных цитокинов, предрасполагая к раннему рубцеванию фильтрационных подушек (ФП) [6, 7].

Ряд исследований, в том числе данные, полученные и опубликованные нами ранее [8], позволили выявить взаимосвязь между эффективным снижением ВГД после трабекулэктомии и непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ) и состоянием лимфатической системы конъюнктивы. В свете представленных данных предполагается, что негативное влияние на исход антиглаукомных вмешательств оказывает не только исходный дисбаланс регуляторных белков, но и использование в ходе операции и в послеоперационном периоде антиметаболитов, ингибирующих рост как соединительной ткани, так и конъюнктивальных лимфатических сосудов, участвующих в отведении внутриглазной жидкости из ФП. Так, в исследовании R.A. Bouhenni и соавт. было показано, что после интраоперационного применения митомидина С в фильтрационных подушках наблюдалось снижение плотности лимфатических и кровеносных сосудов [9].

Таким образом, актуальным в изучении механизмов формирования путей оттока внутриглазной жидкости после антиглаукомных операций является определение роли цитокинов и регуляторных белков в структурном преобразовании внеклеточного матрикса фильтрационных подушек и формировании конъюнктивальных лимфатических сосудов.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить динамику содержания цитокинов и регуляторных белков в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой после непроникающей глубокой склерэктомии на различных этапах послеоперационного периода во взаимосвязи с функциональным состоянием вновь созданных путей оттока.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное обследование 65 пациентов в возрасте от 50 до 70 лет (средний возраст  $63,6 \pm 4,8$  года) с развитой стадией ПОУГ и декомпенсированным уровнем внутриглазного давления (ВГД), которым была выполнена НГСЭ и лазерная десцеметопунктура через 14–18 дней после операции. Все операции выполнены одним хирургом и были сопоставимы по объёму вмешательства. В зависимости от течения послеоперационного периода и условий достижения гипотензивного эффекта НГСЭ все пациенты через 12 месяцев после операции были разделены на три группы: с оптимальным гипотензивным эффектом НГСЭ (группа 1), с условным гипотензивным эффектом НГСЭ (группа 2) и с отсутствием гипотензивного эффекта НГСЭ (группа 3).

Группа 1 состояла из 21 больного ПОУГ (возраст –  $65,4 (53,1; 67,3)$  года) с ВГД (IOPg)  $\leq 16$  мм рт. ст.; по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) пути оттока функциональны; ФП диффузные, по данным ОКТ их содержимое представлено разреженным, гипорефлективным внеклеточным матриксом [10]. На основании результатов ультраструктурного иммуногистохимического исследования образцов ткани функциональных ФП ( $n = 4$ ) было установлено наличие от 5 до 7 лимфатических сосудов с равномерной экспрессией подопланина [8]. Послеоперационный период у больных группы 1 характеризовался ареактивным течением, пациенты получали стандартную инстилляционную антибактериальную и противовоспалительную терапию (левофлоксацин 0,5 %, дексаметазон 0,1 % и непафенак 0,1 % по убывающей схеме).

В группу 2 были включены 23 пациента (возраст –  $63,7 (55,2; 66,8)$  года) с ВГД (IOPg)  $\leq 16$  мм рт. ст.; по данным ОКТ, в раннем послеоперационном периоде субстратом ФП был разреженный ВКМ с локусами жёсткого матрикса, что у части больных сопровождалось транзиторным повышением ВГД. Усиление воспалительной реакции со стороны конъюнктивы через 2 недели после операции явилось показанием к назначению дополнительной противовоспалительной и противифиброзной терапии, детальное описание которой представлено ниже. В позднем и отдалённом периодах после операции в этой группе был достигнут квалифицированный гипотензивный эффект, сформировались функциональные послеоперационные пути оттока ВГЖ, фильтрационные подушки по данным ОКТ визуализировались как распространённые гипорефлективные субконъюнктивальные структуры с разреженным ВКМ.

Группу 3 составил 21 пациент (возраст –  $64,3 (52,2; 67,1)$  года) с ВГД (IOPg)  $> 16$  мм рт. ст.; изменения

вновь созданных путей оттока по данным ОКТ уже в раннем послеоперационном периоде характеризовались наличием преимущественно гиперрефлективного, жёсткого ВКМ. Результаты ультраструктурного иммуногистохимического исследования ткани нефункциональных фильтрационных подушек ( $n = 8$ ) установили отсутствие полноценных лимфатических сосудов в исследуемых образцах [8]. Послеоперационный период характеризовался формированием выраженной воспалительной реакции со стороны конъюнктивы и субконъюнктивальных структур. У пациентов данной группы, несмотря на проведённое дополнительное лечение, гипотензивный эффект НГСЭ достигнут не был.

Пациенты групп 2 и 3 в послеоперационном периоде получали сопоставимый объём дополнительной противовоспалительной и цитостатической терапии, которая включала субконъюнктивальные инъекции кортикостероидов и антиметаболитов (№ 5), а также микроинвазивные нидлинг-ревизии фильтрационной подушки (№ 3) в сроки от 2 до 6 недель после НГСЭ [11–13].

Все исследования и манипуляции выполнены в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта.

Обследование пациентов с ПОУГ проводилось до хирургического лечения, а также через 2 недели (ранний послеоперационный период), 2 месяца (поздний послеоперационный период) и 12 месяцев (отсроченный период) после операции. Определяли уровень ВГД (ORA, ORA Reichert, США), проводили оценку степени воспалительной реакции глаза по данным биомикроскопии, а также определяли состояние вновь созданных путей оттока ВГЖ и рефлективность внеклеточного матрикса фильтрационных подушек по данным ОКТ (Anterior Segment OCT CASIA2, Tomey, Германия). Эти данные легли в основу деления пациентов на 3 группы. В группу с оптимальным гипотензивным эффектом НГСЭ были отнесены пациенты с достигнутым в отсроченном послеоперационном периоде уровнем ВГД (IOPg) 16 мм рт. ст. или ниже без использования местной гипотензивной терапии, с функциональными послеоперационными путями оттока ВГЖ по данным биомикроскопии и ОКТ/ультразвуковой биомикроскопии (УБМ), а также с ареактивным течением раннего послеоперационного периода и отсутствием показаний к дополнительной противовоспалительной и противотревожной терапии.

Критериями условного гипотензивного эффекта НГСЭ являлось достижение через 12 месяцев уровня ВГД (IOPg) 16 мм рт. ст. и ниже без использования местной гипотензивной терапии при функциональных путях оттока по данным биомикроскопии и ОКТ/УБМ, но при этом гипотензивный эффект НГСЭ получен после дополнительной противовоспалительной и антифиброзной терапии в раннем послеоперационном периоде.

Критериями отсутствия гипотензивного эффекта НГСЭ являлись: уровень ВГД (IOPg) выше 16 мм рт. ст.; нефункциональные или частично функциональные вновь созданные пути оттока по данным биомикроско-

пии и ОКТ/УБМ, несмотря на проводимую дополнительную противовоспалительную и антифиброзную терапию.

Кроме того, в 12 случаях через 12–18 месяцев после НГСЭ было проведено ультраструктурное исследование образцов ткани фильтрационных подушек, которые были получены во время повторных хирургических вмешательств. В 8 случаях исследовались образцы нефункциональных рубцово-изменённых подушек, в 4 случаях были иссечены фрагменты функциональных, разлитых фильтрационных подушек в связи с их значительным смещением на роговицу и зрительным дискомфортом пациентов. Проводили иммуногистохимическое окрашивание на экспрессию ДНК ядер клеток (DAPI) и подопланина-маркёра эндотелия лимфатических сосудов с ультраструктурным исследованием полученных препаратов на лазерном конфокальном микроскопе LSM 710 (Carl Zeiss AG, Германия).

В слёзной жидкости определяли концентрацию TGF- $\beta$ , MMP-9, ИЛ-6, ИЛ-8 и фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A, vascular endothelial growth factor A) (121 и 165) методом ИФА с использованием наборов Human TGF- $\beta$ , Human MMP-9 ELISA, ИЛ-6-ИФА-Бест, ИЛ-8-ИФА-Бест и VEGF-ИФА-Бест (Вектор-Бест, Новосибирск). Слёзную жидкость у пациентов с ПОУГ в количестве 100 мкл забирали капиллярным методом из нижнего конъюнктивального свода за 4–6 часов до антиглаукомной операции, а также через 2 недели (до проведения лазерной десцеметопунктуры) и через 2 месяца после НГСЭ.

Пациенты были включены в исследование на добровольных началах, в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, ред. 2013). Исследование утверждено решением комитета по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Статистическая обработка результатов клинического исследования проводилась с применением методов непараметрической статистики с расчётом критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали полученные показатели с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Для характеристики рассеяния в выборке высчитывали медиану (Me) и межквартильный интервал (25-й–75-й процентиля). Учитывая значительную девиацию концентрации исследуемых регуляторных белков и цитокинов, применялся способ построения линейных графиков нескольких переменных в программе Statistica (StatSoft Inc., США), что позволило наглядно представить динамику их содержания в слезе в пред- и послеоперационном периоде.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для пациентов группы 1 были характерны минимальные среди групп сравнения исходные концентрации TGF- $\beta$  в слезе и умеренные значения этого фактора через 2 недели и 2 месяца (в 62 % случаев) после НГСЭ. Однако у 38 % пациентов через 2 месяца произошло полное подавление TGF- $\beta$  слезы, вероятно, обусловленное завершением процессов послеоперационного воспаления (табл. 1, рис. 1). Кроме того, у больных груп-

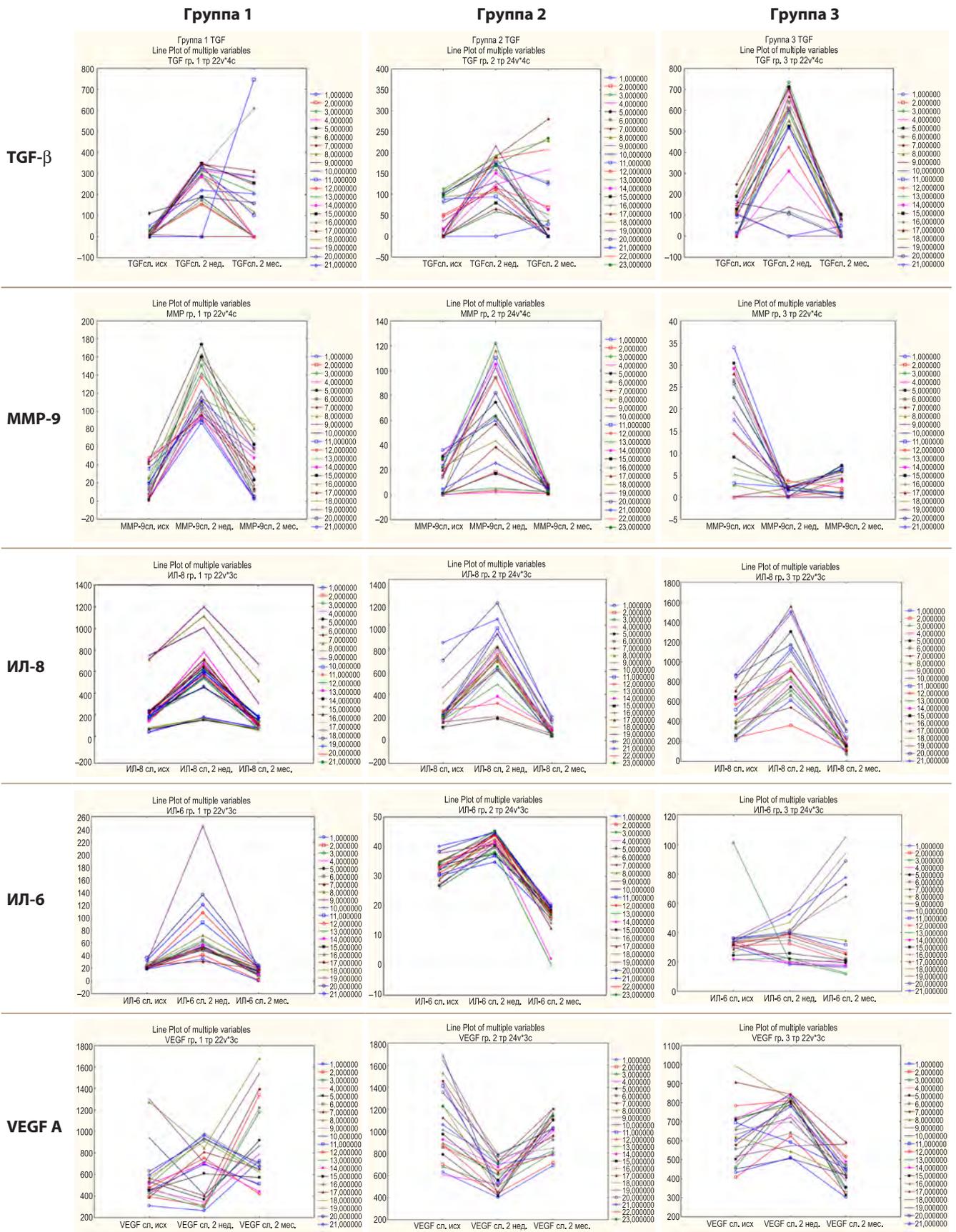
пы 1 на всех этапах пред- и послеоперационного периода выявлены высокие концентрации MMP-9, нарастание VEGF-A ко 2-му месяцу после НГСЭ, а также минималь-

ные среди групп сравнения концентрации провоспалительных ИЛ-6 и ИЛ-8 в раннем послеоперационном периоде и их подавление в позднем.

**ТАБЛИЦА 1**  
**КОНЦЕНТРАЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ В СЛЁЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ПОУГ НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ПЕРИОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА**

**TABLE 1**  
**REGULATORY PROTEINS CONCENTRATION IN THE TEAR FLUID OF POAG PATIENTS AT VARIOUS STAGES OF THE PERIOPERATIVE PERIOD**

Показатели	Группа 1, Ме (IQR)	Группа 1, Ме (IQR)	Группа 1, Ме (IQR)	<i>p</i> (Манна – Уитни)
MMP-9 (исходно), нг/ мл	16,1 (6,3–36,3)	15,2 (0,4–28,2)	14,4 (3,18–25,8)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
MMP-9 (2 недели), нг/ мл	112,0 (96,5–142,1)	63,0 (18,5–102,4)	1,7 (0,16–2,2)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
MMP-9 (2 месяца), нг/ мл	25,1 (11,1–57,4)	4,2 (2,04–6,1)	3,6 (0,9–5,9)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$
TGF- $\beta$ (исходно), пг/ мл	9,1 (0,0–22,0)	36,7 (0,0–96,0)	107,7 (15,7–142,4)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,003$ $p_{2-3} = 0,02$
TGF- $\beta$ (2 недели), пг/ мл	294,6 (189–324,8)	150,4 (104,6–177,6)	590,6 (311,2–669,0)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,001$
TGF- $\beta$ (2 месяца), пг/ мл	153 (0–256,0)	34,4 (0–130,2)	11,7 (0–47,7)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3} > 0,05$
VEGF-A (исходно), пг/ мл	504,0 (452,0–572,0)	1018,0 (856,0–1409,0)	617,0 (503,0–709,0)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} = 0,001$
VEGF-A (2 недели), пг/ мл	703,0 (370,0–847,0)	604,0 (452,0–705,0)	780,0 (624,0–815,0)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} = 0,001$
VEGF-A (2 месяца), пг/ мл	709,0 (622,0–1180,0)	1015,0 (826,0–1137,0)	439,0 (390,0–437,0)	$p_{1-2} = 0,04$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
ИЛ-6 (исходно), пг/ мл	23,10 (21,3–25,0)	32,7 (29,3–34,9)	32,3 (30,0–34,4)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$
ИЛ-6 (2 недели), пг/ мл	55,4 (50,4–72,3)	41,6 (39,6–44,2)	36,8 (22,1–40,1)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,003$
ИЛ-6 (2 месяца), пг/ мл	16,2 (11,0–20,6)	17,8 (15,9–19,0)	25,2 (19,3–64,4)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
ИЛ-8 (исходно), пг/ мл	182,0 (158,3–225,1)	211,6 (181,4–253,4)	461,0 (337,2–649,2)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
ИЛ-8 (2 нед), пг/ мл	607,2 (537,0–690,0)	710,4 (607,0–822,6)	919,2 (747,8–1131,0)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,006$
ИЛ-8 (2 месяца), пг/ мл	112,0 (82,0–171,0)	84,5 (49,5–118,3)	164,2 (110,9–224,6)	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,04$ $p_{2-3} = 0,001$



**РИС. 1.**  
 Линейные графики изменения концентрации цитокинов и регуляторных белков в слезе в различные сроки наблюдения у пациентов с ПОУГ трёх клинических групп

**FIG. 1.**  
 Linear graphs of changes in the cytokines and regulatory proteins concentration in the tear fluid at different follow-up periods in POAG patients of three clinical groups

Пациентов группы 2 отличали экстремально высокий исходный уровень VEGF-A слезы и его пиковое повышение ко 2-му месяцу послеоперационного периода. Исходные концентрации TGF- $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 слезы превышали значения пациентов группы 1, а в раннем послеоперационном периоде они возросли в 1,5–2 раза; это сопровождалось усилением воспалительной реакции конъюнктивы через 2 недели после НГСЭ и явилось показанием к назначению дополнительной противовоспалительной и противомембранозной терапии. Через 2 месяца произошло подавление этих факторов. Также для пациентов с условным гипотензивным эффектом НГСЭ было характерно значительное нарастание концентрации MMP-9 слезы в раннем послеоперационном периоде (см. табл. 1, рис. 1).

У пациентов группы 3 концентрации TGF- $\beta$  и ИЛ-8 слезы были максимальными как перед хирургическим лечением, так и в раннем послеоперационном периоде. Принципиальным отличием от групп 1 и 2 стало снижение MMP-9 слезы через 2 недели после НГСЭ. Кроме того, у этих пациентов сохранялись высокие концентрации ИЛ-6 и произошло значительное подавление VEGF-A слезы в позднем послеоперационном периоде.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Заживление ран – сложный динамический процесс, который находится под постоянным биохимическим контролем регуляторных молекул, которые обеспечивают специфические взаимодействия между клетками и компонентами внеклеточного матрикса, приводя к восстановлению структурной целостности ткани. Как было показано ранее [10, 14], функциональная ФП после НГСЭ представляет собой гипотензивную субконъюнктивальную структуру в виде разреженного ВКМ с полноценными лимфатическими сосудами, что позволяет эффективно отводить внутриглазную жидкость по послеоперационным путям оттока и определяет стойкий гипотензивный эффект АГО.

Факторами, предрасполагающими к формированию оптимального гипотензивного эффекта НГСЭ, являются: низкие исходные концентрации провоспалительных цитокинов и регуляторных белков, в частности ИЛ-6, ИЛ-8, TGF- $\beta$ , что определяет минимальную воспалительную реакцию конъюнктивы в раннем послеоперационном периоде; высокие уровни MMP-9, отвечающего за своевременную деградацию компонентов временного ВКМ на всех этапах послеоперационного периода, а также нарастание VEGF-A ко 2-му месяцу после НГСЭ, что обеспечивает конъюнктивальный лимфоангиогенез.

Значительное нарастание MMP-9 в раннем послеоперационном периоде и пиковое повышение уровня VEGF-A слезы в позднем послеоперационном периоде у пациентов группы 2, возможно, также способствовало формированию функциональных путей оттока внутриглазной жидкости, несмотря на выраженную воспалительную реакцию со стороны конъюнктивы через 2 недели после НГСЭ. Полученные данные, кроме того, позволили установить биологические маркеры эффективности дополнительных лечебных мероприятий, на-

правленных на купирование воспалительной реакции и процессов избыточного рубцевания в зоне хирургического вмешательства. Ими являются ИЛ-6 и ИЛ-8, а также TGF- $\beta$ , подавление которых ко второму месяцу послеоперационного периода определяло формирование достаточного (условного) гипотензивного эффекта НГСЭ.

Неуспех хирургии у пациентов группы 3 был обусловлен наиболее высоким исходным уровнем факторов, обладающих провоспалительной и профиброгенной активностью, повышенной экспрессией ИЛ-6, ИЛ-8 и TGF- $\beta$  в слезе в раннем послеоперационном периоде на фоне значительного снижения MMP-9, а также сохранением высоких концентраций ИЛ-6 и подавлением VEGF-A через 2 месяца после НГСЭ. Это определило выраженную воспалительную реакцию глаза на хирургическую травму и её хронизацию в отдалённом периоде, активный фиброгенез, нарушение деградации компонентов временного ВКМ и отсутствие конъюнктивального лимфоангиогенеза.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе проведённого исследования доказано, что важными условиями формирования функциональных путей оттока ВГЖ после НГСЭ является сохранение баланса между цитокинами и регуляторными белками, обладающими провоспалительными и профиброгенными свойствами, и факторами, обеспечивающими своевременную деградацию компонентов временного ВКМ и активацию конъюнктивального лимфоангиогенеза.

Исходно высокие концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и TGF- $\beta$  в слезе, подавление MMP-9 и VEGF-A в результате активной и, вероятнее всего, избыточной противовоспалительной и цитостатической терапии в некоторых случаях способствуют хирургическому успеху АГО, так как приводят к нарушению структурной реорганизации временного ВКМ и конъюнктивального лимфоангиогенеза, призванного обеспечить равномерный отток внутриглазной влаги из фильтрационных подушек.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wynn TA. Mechanisms of fibrosis: Therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med.* 2012; 18(7): 1028-1040. doi: 10.1038/nm.2807
2. Tripathi RC. Aqueous humor in glaucomatous eyes contains an increased level of TGF-beta 2. *Exp Eye Res.* 1994; 59: 723-727. doi: 10.1006/exer.1994.1158
3. Волкова Н.В., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н., Колесников С.И. Роль биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слезной жидкости в реализации гипотензивного эффекта непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ). *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(2):126-132. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.14

4. Yamanaka O. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmol.* 2015; 15: 157. doi: 10.1186/s12886-015-0134-8
5. Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev.* 1994; 8: 133-146. doi: 10.1101/gad.8.2.133
6. Rodrigues ML. Immunohistochemical expression of HLA-DR in the conjunctiva of patients under topical prostaglandin analogs treatment. *J Glaucoma.* 2009; 18: 197-200. doi: 10.1097/IJG.0b013e31818153f4
7. Furtado JM, Paula JS, Soares EG, Dhegaide NH, Rocha EM, Donadi E, et al. Conjunctival inflammation in patients under topical glaucoma treatment with indication to surgery. *Acta Cir Bras.* 2012; 27: 732-735. doi: 10.1590/s0102-86502012001000011
8. Юрьева Е.Н., Малышева Ю.В., Клименков И.В., Судачков Н.П. Иммуногистохимическая идентификация лимфатического оттока в фильтрационных подушках после непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ). *Офтальмохирургия.* 2021; 3: 48-54. doi: 10.25276/0235-4160-2021-3-48-54
9. Bouhenni RA, Al Jadaan I, Rassavong H, Al Shahwan S, Al Katan H, Dunmire J, et al. Lymphatic and blood vessel density in human conjunctiva after glaucoma filtration surgery. *J Glaucoma.* 2016; 25(1): 35-38. doi: 10.1097/IJG.0000000000000199
10. Юрьева Т.Н., Малышева Ю.В., Курсакова Ю.В., Мускатина Е.В. Некоторые аспекты формирования фильтрационных подушек у больных с первичной открытоугольной глаукомой после непроникающей глубокой склерэктомии. *Национальный журнал Глаукома.* 2022; 21(4): 13-21. doi: 10.53432/2078-4104-2022-21-4-13-21
11. *Клинические рекомендации. Глаукома, ПОУГ.* 2020. URL: <http://avo-portal.ru/doc/fkr/odobrennye-nps-i-utverzhdennye-avo/item/246-glaukoma-otkrytougolnaya> [дата доступа: 23.12.2022].
12. Петров С.Ю. Современная концепция борьбы с избыточным рубцеванием после фистулизирующей хирургии глаукомы. Противовоспалительные препараты и новые тенденции. *Офтальмология.* 2017; 14(2): 99-105. doi: 10.18008/1816-5095-2017-2-99-105
13. Петров С.Ю., Сафонова Д.М. Эффективность нидлинга в пролонгации отдаленного гипотензивного эффекта синустрабекулэктомии. *Современные технологии в офтальмологии.* 2020; 35(4): 142-143. doi: 10.25276/2312-4911-2020-4-142-143
14. Khoo YJ. Use of trypan blue to assess lymphatic function following trabeculectomy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2019; 47(7): 892-897. doi: 10.1111/ceo.13534
2. Tripathi RC. Aqueous humor in glaucomatous eyes contains an increased level of TGF-beta 2. *Exp Eye Res.* 1994; 59: 723-727. doi: 10.1006/exer.1994.1158
3. Volkova NV, Malysheva JV, Iureva TN, Kolesnikov SI. The role of biologically active aqueous humor molecules of the anterior chamber and lacrimal fluid in the implementation of the hypotensive effect of non-penetrating deep sclerectomy. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(2):126-132. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.14
4. Yamanaka O. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmol.* 2015; 15: 157. doi: 10.1186/s12886-015-0134-8
5. Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev.* 1994; 8: 133-146. doi: 10.1101/gad.8.2.133
6. Rodrigues ML. Immunohistochemical expression of HLA-DR in the conjunctiva of patients under topical prostaglandin analogs treatment. *J Glaucoma.* 2009; 18: 197-200. doi: 10.1097/IJG.0b013e31818153f4
7. Furtado JM, Paula JS, Soares EG, Dhegaide NH, Rocha EM, Donadi E, et al. Conjunctival inflammation in patients under topical glaucoma treatment with indication to surgery. *Acta Cir Bras.* 2012; 27: 732-735. doi: 10.1590/s0102-86502012001000011
8. Iureva TN, Malysheva JuV, Klimentov IV, Sudakov NP. Immunohistochemical identification of lymphatic outflow in filtering blebs after non-penetrating deep sclerectomy (NPDS). *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.* 2021; 3: 48-54. (In Russ.). doi: 10.25276/0235-4160-2021-3-48-54
9. Bouhenni RA, Al Jadaan I, Rassavong H, Al Shahwan S, Al Katan H, Dunmire J, et al. Lymphatic and blood vessel density in human conjunctiva after glaucoma filtration surgery. *J Glaucoma.* 2016; 25(1): 35-38. doi: 10.1097/IJG.0000000000000199
10. Iureva TN, Malysheva JV, Kursakova JV, Muskatina EV. Some aspects of filtering bleb formation in patients with primary open-angle glaucoma after non-penetrating deep sclerectomy. *National Journal Glaucoma.* 2022; 21(4): 13-21. (In Russ.). doi: 10.53432/2078-4104-2022-21-4-13-21
11. *Clinical recommendations. Glaucoma, POAG.* 2020. URL: <http://avo-portal.ru/doc/fkr/odobrennye-nps-i-utverzhdennye-avo/item/246-glaukoma-otkrytougolnaya> [date of access: 23.12.2022]. (In Russ.).
12. Petrov SYu. Modern methods of controlling wound healing after fistulizing glaucoma surgery. Anti-inflammatory drugs and new trends. *Ophthalmology in Russia.* 2017; 14(2): 99-105. (In Russ.). doi: 10.18008/1816-5095-2017-2-99-105
13. Petrov SYu, Safonova DM. Efficacy of bleb needling after trabeculectomy. *Modern Technologies in Ophthalmology.* 2020; 35(4): 142-143. (In Russ.). doi: 10.25276/2312-4911-2020-4-142-143
14. Khoo YJ. Use of trypan blue to assess lymphatic function following trabeculectomy. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2019; 47(7): 892-897. doi: 10.1111/ceo.13534

## REFERENCES

1. Wynn TA. Mechanisms of fibrosis: Therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med.* 2012; 18(7): 1028-1040. doi: 10.1038/nm.2807

### Сведения об авторах

**Малышева Юлия Витальевна** – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: mal-julia@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4200-5649>

**Юрьева Татьяна Николаевна** – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – фи-

лиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; профессор кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tnyurieva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0547-7521>

**Волкова Наталья Васильевна** – кандидат медицинских наук, заведующая научно-образовательным отделом, врач-офтальмолог высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; доцент кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; доцент кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vnv-mntk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5170-2462>

**Курсакова Юлия Владимировна** – заведующая клинко-диагностической лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: julia.kursakova1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6844>

**Колесников Сергей Иванович** – доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

#### Information about the authors

**Julia V. Malisheva** – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; e-mail: mal-julia@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4200-5649>

**Tatiana N. Iureva** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: tnyurieva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0547-7521>

**Natalia V. Volkova** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Scientific and Educational Department, Ophthalmologist, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Associate Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Associate Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University; e-mail: vnv-mntk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5170-2462>

**Julia V. Kursakova** – Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: julia.kursakova1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6844>

**Sergey I. Kolesnikov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Leading Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>