

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС  
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА»  
МИНЗДРАВА РОССИИ

На правах рукописи

**КИМ СВЕТЛАНА МИХАЙЛОВНА**

**Клинико-экспериментальное обоснование назначения  
мелатонинсодержащей терапии перед фактоэмульсификацией  
катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями  
возрастной макулярной дегенерации**

3.1.5. Офтальмология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор  
Ходжаев Назрулла Сагдуллаевич

**Научный консультант:**

доктор биологических наук, профессор  
Стадников Александр Абрамович

Оренбург– 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КЛИНИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	13
1.1. Этиология, факторы риска, патогенез, классификация возрастной макулярной дегенерации .....	13
1.2. Экспериментальные модели возрастной макулярной дегенерации	20
1.3. Роль мелатонина в регуляции обменных процессов в сетчатке .....	25
1.4. Мультимодальное протекторное действие мелатонина при возрастной макулярной дегенерации и хирургии катаракты .....	32
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	38
2.1. Общая характеристика материалов экспериментальных исследований, дизайн исследования .....	38
2.2. Методы экспериментальных исследований .....	40
2.3. Общая характеристика клинического материала исследования, дизайн клинической части исследования .....	42
2.4. Методы клинических исследований и техника операции .....	46
2.5. Методы лабораторно-иммунологических исследований .....	51
2.6. Статистическая обработка данных .....	53
Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА НА СОСТОЯНИЕ СЕТЧАТКИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ФОТОТОКСИЧЕСКОЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ .....	55
3.1. Экспериментально-гистологическая оценка изменений реорганизации цитоархитектоники сетчатки .....	55
3.2. Особенности про- и антиапоптотических процессов при центральной дегенерации сетчатки в экспериментальной модели .....	63
Глава 4. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНСОДЕРЖАЩЕЙ ТЕРАПИИ НА КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ И КАТАРАКТОЙ ДО И ПОСЛЕ ФАКОЭМУЛЬСИФИКАЦИИ .....	71
4.1. Определение содержания мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой, оценка корреляционной связи между мелатонином в биологических средах с факторами риска развития с возрастной макулярной дегенерации .....	72

4.1.1. Клинико-морфофункциональные характеристики пациентов исследуемых групп .....	72
4.1.2. Характеристика данных анкетирования для определения факторов риска возрастной макулярной дегенерации .....	78
4.1.3. Количественная оценка концентрации мелатонина в биологических средах у лиц исследуемых групп .....	81
4.1.4. Определение корреляционной связи между факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации и содержанием мелатонина в исследуемых биологических средах .....	84
4.2. Клинико-лабораторные исследования содержания мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями с возрастной макулярной дегенерации в различные сроки после проведения факоемульсификации .....	90
4.3. Клинико-лабораторные исследования интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ и ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов с катарактой и с начальной и промежуточной стадиями с возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки проведения факоемульсификации, корреляционный анализ между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$ и уровнем мелатонина в слезной жидкости .....	93
4.3.1. Лабораторные исследования интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ и ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями ВМД до и в различные сроки проведения факоемульсификации катаракты .....	93
4.3.2. Корреляционный анализ характера связи между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$ и уровнем мелатонина в слезной жидкости .....	97
Глава 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ НАЗНАЧЕНИЯ МЕЛАТОНИНСОДЕРЖАЩЕЙ ТЕРАПИИ ПЕРЕД ФАКОЭМУЛЬСИФИКАЦИЕЙ КАТАРАКТЫ ПАЦИЕНТАМ С НАЧАЛЬНОЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ СТАДИЯМИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ .....	100
5.1. Динамика клинико-функциональных показателей .....	100
5.2. Разработка алгоритма медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоемульсификацией возрастной катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации .....	109
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	124
ВЫВОДЫ .....	143
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	146
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	147
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	148

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность**

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является ведущей причиной потери центрального зрения у пожилых лиц, в том числе в экономически развитых странах (Thomas C.J. et al., 2021). Тяжесть заболевания обусловлена центральной локализацией процесса, двусторонним характером поражения и хроническим прогрессирующим течением (Бикбов М.М. и др., 2012). Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ВМД является причиной слепоты в 9% случаев (около 3 млн. человек), занимая 3-е место после катаракты и глаукомы. В России заболеваемость ВМД составляет 15 человек на 1000 населения (Назарян М.Г., Арбуханова П.М., 2016). По данным ВОЗ (1986), тенденция к преобладанию лиц пожилого возраста среди населения приводит к ежегодному увеличению заболеваемости данной патологией. По прогнозам ООН, к 2050 году численность людей пожилого и старческого возраста составит около 1,5 млрд. человек. В последние годы наблюдается значительный рост заболевания в молодом возрасте, что ведет к инвалидизации трудоспособного населения (Исмаилова С.К., Балмуханова А.В., 2018). По оценкам специалистов, влажная форма ВМД встречается в 10-20% случаев, из них в 80-90% случаев становится причиной значительной потери зрения (Hernandez-Zimbron L.F. et al., 2018).

По результатам различных исследований, основными факторами риска развития ВМД являются возраст, курение, этническая принадлежность, наследственность, пониженный уровень антиоксидантов в организме (Chakravarthy U. et al., 2010; Al-Zamil W.M., Yassin S.A., 2017; Fernandez-Araque A. et al., 2017). Четкая взаимосвязь с развитием ВМД прослеживается при: атеросклеротическом поражении сонных артерий, сахарном диабете, нарушении липидного и углеводного обмена, повышенной инсоляции

(Pennington K.L., DeAngelis M.M., 2016; Reibaldi M. et al., 2016; Burgess S., Smith G.D., 2017).

Существующая тенденция к увеличению ВМД, в том числе у работоспособной части населения, с возможной потерей профессиональной деятельности свидетельствует о необходимости установления морфологических критериев, раннего выявления факторов риска, проведения своевременной профилактики и лечения данной патологии (Hernandez-Zimbron L.F. et al., 2018).

По классификации ВОЗ, средний возраст пациентов с катарактой варьирует на границе между пожилым и старческим, что объясняет наличие сопутствующей офтальмологической патологии, такой как ВМД (Астахов Ю.С. и др., 2012). Учитывая частое сочетание возрастной макулярной дегенерации и катаракты в одном глазу, вероятность риска ускоренного, опосредованно индуцированного прогрессирования дегенеративных процессов в макулярной области после хирургического удаления хрусталика влечет за собой серьезные этические, клинические, экономические и правовые проблемы для офтальмологов (Астахов Ю.С. и др., 2014). Таким образом, хирургия катаракты относится к возможным факторам, ассоциированным с развитием ВМД.

Патогенез ВМД до конца не ясен, но по данным многих исследователей известно, что на развитие заболевания влияют: оксидативный стресс (Jadeja R.N., Martin P.M., 2021; Wiktorowska-Owcharek A., Nowak J.Z., 2010), ишемия (Coleman D. et al., 2013), местная воспалительная реакция (Kijlstra A. et al., 2012), возрастные изменения в пигментном эпителии сетчатки, мембране Бруха, хориокапиллярах (Mori H. et al., 2019). Также большое внимание уделяется изучению цитокинового профиля слезной жидкости у пациентов с ВМД, поскольку в 2019 году Mimura T. с соавторами установили прямую взаимосвязь между дисфункцией иммунной системы и катализом индукции фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

В последние годы все большее внимание привлечено к потенциальным свойствам мелатонина в аспекте предупреждения прогрессирования и профилактики ВМД (Stefanova N.A. и др., 2013). Гормон мелатонин, открытый в 1958 году Лернером А.Б., вырабатывается секреторными клетками эпифиза – пинеалоцитами (Каладзе Н.Н. и др., 2010). Мелатонин обладает амфифильными свойствами, то есть растворяется как в воде, так и в жирах. Благодаря этому он преодолевает все тканевые барьеры, свободно проходит через клеточные мембраны. Мелатонин может воздействовать на внутриклеточные процессы, как минуя систему рецепторов и сигнальных молекул, так и путем взаимодействия с ядерными и мембранными рецепторами. Рецепторы к мелатонину обнаружены в различных ядрах гипоталамуса, сетчатке глаза, кардиомиоцитах и других тканях (Лискова Ю.В. и др., 2018; Niehoff J. et al., 2021; Wiechmann A.F., Sherry D.M., 2013).

Способность мелатонина «менять световосприятие» определяется его сложным влиянием на функцию различных клеточных элементов сетчатки. На вертикальных срезах сетчатки здоровых людей иммуногистохимическим методом с использованием специфических антител для рецепторов мелатонина показано, что оба типа мелатониновых рецепторов (MT1 и MT2) демонстрируют сходный уровень экспрессии в слоях ганглионарных, горизонтальных нейронов и во внутренних сегментах дендритов фоторецепторов. В то же время в клетках пигментного эпителия обнаружены лишь MT2, но не MT1 рецепторы, как и оба типа ядерных орфановых рецепторов (Арушанян Э.Б., Ованесов К.Б., 2016).

Помимо ритморганизующего эффекта, мелатонин обладает выраженным антиоксидантным и иммуномодулирующим действием (Агарков А.А. и др., 2012). Полагают, что эпифиз, посредством мелатонина, осуществляя контроль над эндокринной, нервной и иммунной системами, интегрирует системный ответ на неблагоприятные факторы, воздействуя на резистентность организма. Мелатонин связывает свободные радикалы кислорода, одновременно запуская естественную систему антиоксидантной

защиты, данный факт был установлен в исследованиях Reiter R.J. с соавторами в 2018 году.

Мелатонин регулирует метаболизм и эффективно защищает клетки против токсичности бета-амилоида, оксидативного повреждения и гибели клеток (апоптоза) (Kam J.H. et al., 2010). Иммуномодулирующее свойство мелатонина связано с его способностью ограничивать выраженность воспалительного процесса. Противовоспалительная активность мелатонина зависит от комплекса механизмов, включая вмешательство в каскад арахидоновой кислоты, ограничение процессов оксидантного стресса, иммуномодуляцию (Арушунян Э.Б., Наумов С.С., 2013). Мелатонин снижает проницаемость тканевых барьеров (в том числе гематофтальмического), резко возрастающую при воспалении (Reiter R.J. et al., 2013).

Мелатонин уменьшает появление хирургических осложнений после фактоэмульсификации катаракты у экспериментальных животных (собак), благодаря его противовоспалительному эффекту, сходному с нестероидными и стероидными препаратами, используемыми местно в инстилляциях (Sande P.H. et al., 2016).

Таким образом, поиск объективных предикторов для оценки прогрессирования ВМД, а также поиски эффективных патогенетически ориентированных медикаментозных направлений для профилактики прогрессирования ВМД является значимой проблемой для фундаментальной и практической офтальмологии.

### **Цель исследования**

На основании экспериментально-гистологических и клинико-лабораторных исследований разработать медицинскую технологию, включающую назначение мелатонинсодержащей терапии перед фактоэмульсификацией катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации для профилактики прогрессирования последней.

## **Задачи исследования**

1. Разработать модель фототоксической центральной дегенерации сетчатки *in vivo* для оценки противовоспалительного и антиапоптотического действия мелатонина.

2. Определить содержание мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой до факоемульсификации, изучить характер связи между концентрацией мелатонина в исследуемых средах с факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации.

3. Определить концентрацию мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки после проведения факоемульсификации.

4. Определить содержание интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки после хирургии катаракты и оценить характер связи между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  и уровнем мелатонина в слезной жидкости.

5. На основании результатов клинико-экспериментального исследования обосновать целесообразность и разработать алгоритм тактики ведения пациентов с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации в сочетании с возрастной катарактой, включающей назначение мелатонинсодержащей терапии перед проведением факоемульсификации.

## **Научная новизна**

1. Создана *in vivo* экспериментальная модель фототоксической и лазер-индуцированной центральной дегенерации сетчатки интравитреальным способом. Впервые доказана антиапоптотическая активность мелатонина с торможением дистрофических процессов сетчатки в эксперименте.



2. Впервые изучены системные и локальные нарушения содержания мелатонина у пациентов с катарактой и возрастной макулярной дегенерацией в разной стадии заболевания. Выявлено, что снижение уровня мелатонина является фактором риска прогрессирования возрастной макулярной дегенерации.

3. Впервые установлена связь между уровнем мелатонина в сыворотке крови, слезной жидкости и показателями цитокинов (интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8) в исследованных биоматериалах у пациентов с катарактой, начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и после фактоэмульсификации катаракты с применением мелатонина и без него.

4. Впервые исследовано влияние мелатонина на клинко-морфологические и иммунологические параметры у пациентов с катарактой, начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации после хирургии катаракты.

### **Практическая значимость**

1. На основании данных клинко-функциональных и иммунологических исследований актуализированы критерии ранней диагностики и прогнозирования течения возрастной макулярной дегенерации у пациентов группы высокого риска развития катаракты.

2. Разработана медицинская технология, включающая алгоритм назначения мелатонинсодержащей терапии пациентам с катарактой, начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации перед проведением фактоэмульсификации катаракты.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная медицинская технология, заключающаяся в назначении мелатонинсодержащей терапии перед фактоэмульсификацией катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации, позволяет получить противовоспалительный

эффект, сопровождающийся снижением уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8. Достигнутый эффект сохраняется в раннем и позднем послеоперационном периодах и характеризуется меньшей воспалительной реакцией со стороны цилиарного тела, улучшением зрительных функций и морфометрических показателей сетчатки.

2. Экспериментально-гистологическое обоснование антиапоптотического и противовоспалительного действия мелатонина с ограничением активности патогенетических условий развития дистрофических процессов в сетчатке при моделировании ее фототоксической дегенерации свидетельствует о позитивном корригирующем влиянии мелатонина на адаптогенез и репарацию глиальных структур.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты исследований и разработанная методика внедрены в практическую деятельность Оренбургского, Новосибирского, Иркутского филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, а также в офтальмологических отделениях ГБУЗ «Самарская областная клиническая офтальмологическая больница им. Т.И. Ерошевского, ГБУЗ «Пензенская областная офтальмологическая больница», КО ГБУЗ «Кировская клиническая офтальмологическая больница», БУЗ УР «Республиканская офтальмологическая клиническая больница МЗ УР» (г. Ижевск).

Результаты и положения работы включены в программу теоретических и практических занятий на циклах тематического усовершенствования врачей и обучения ординаторов в Оренбургском филиале ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, в учебный план кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»,

кафедры глазных болезней Приволжского исследовательского медицинского университета (г. Н. Новгород).

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на XXXI, XXXII Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Оренбургская Конференция Офтальмологов» (Оренбург 2020, 2021), XIII Российском общенациональном офтальмологическом форуме (Москва, 2020), Межрегиональной научно-практической конференции «Инновационные технологии диагностики и хирургического лечения патологии заднего отдела глазного яблока и зрительного нерва» (Краснодар, 2021), Научно-практической конференции «Пироговский офтальмологический форум-2021» (Москва, 2021), Юбилейной офтальмологической международной конференции «Ерошевские чтения-2022», посвященной 120-летию со дня рождения Т.И. Ерошевского (Самара, 2022).

### **Публикации**

По материалам исследования опубликовано 13 печатных работ, из них 9 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных результатов диссертационных исследований (в том числе 4 – в журналах, индексируемых в базах данных Scopus), 1 – в зарубежном издании. По теме диссертационной работы получен 1 патент РФ на изобретение № 2727872 от 24.07.2020.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 175 листах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 41 рисунком и 25 таблицами. Список

литературы содержит 216 источников, из них 42 на русском языке и 174 – на иностранном языке.

### **Личное участие автора**

Личный вклад в структуру работы соискателя состоит в анализе литературных данных, проведении экспериментальной части работы, курации пациентов, заборе биологического материала; проведении пациентам функциональной диагностики, анализе и обобщении полученных результатов и их интерпретации; подготовке публикаций, презентации данных на российских и международных конференциях.

Клиническая часть работы выполнена на базе Оренбургского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России под руководством директора, доктора медицинских наук, профессора А.Д. Чупрова.

Иммунологические исследования проводились на базе кафедры клинической, лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ОрГМУ (Оренбургский государственный медицинский университет) под руководством доктора медицинских наук, профессора А.И. Смолягина. Гистологические исследования выполнялись на базе кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии под руководством доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОрГМУ (Оренбургский государственный медицинский университет) А.А. Стадникова.

# **Глава 1. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КЛИНИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

## **1.1. Этиология, факторы риска, патогенез, классификация возрастной макулярной дегенерации**

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является распространенным хроническим прогрессирующим дегенеративным расстройством макулы, которое ведет к потере центрального зрения у пожилых лиц. Это многофакторное заболевание, включающее сложное взаимодействие генетических, экологических, метаболических и функциональных факторов. В России заболеваемость ВМД составляет 15 человек на 1000 населения. Как правило, ВМД чаще встречается у лиц в возрасте 50 лет и старше. В США у 8 миллионов выявлена ранняя стадия ВМД, у 1,75 миллионов из них – поздняя в возрасте старше 40 лет [22, 33, 196].

К числу основных факторов риска развития ВМД относят: наследственность, возраст, курение, этническую принадлежность, сердечно-сосудистые заболевания, пониженный уровень антиоксидантов в организме [46, 70, 96].

Четкая взаимосвязь с развитием ВМД прослеживается при атеросклеротическом поражении сонных артерий, сахарном диабете, нарушении липидного и углеводного обмена, повышенной инсоляции [63, 167, 173]. ВМД сопровождается общей воспалительной реакцией в виде активации системы комплемента, аналогичной наблюдаемой при дегенеративных сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз. Все эти факты указывают на то, что возрастная дегенерация может быть сосудистым заболеванием [97].

Следует подчеркнуть, что патогенез ВМД до конца не ясен, хотя выдвинут ряд теорий, в том числе: окислительного стресса, генетических взаимодействий, гемодинамического дисбаланса, иммунных и воспалительных процессов, возрастных изменений в пигментном эпителии сетчатки, мембране Бруха и хориокапиллярах [104, 136].

При старении клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ) в макулярной зоне происходит изменение морфологических параметров цитоплазмы в ядрах нейронов, перераспределение пигмента [72]. Токсическое действие свободных радикалов реализуется через повреждение липидов клеточных мембран, поверхностных протеинов и трансмембранных гликопротеидов. Фототоксичной для сетчатки является коротковолновая часть спектра видимого света, инфракрасные и ультрафиолетовые лучи [28, 211].

Нарушение проницаемости капилляров на уровне мембраны Бруха, хориокапилляров и РПЭ является причиной ухудшения снабжения питательными веществами наружных слоев сетчатки и ведет к нарушению удаления из нее продуктов метаболизма. Перекисное окисление липидов приводит к образованию больших молекулярных цепочек, которые не распознаются ферментами клеток пигментного эпителия; не распадаются и накапливаются с возрастом, образуя друзы [8]. Они представляют собой внеклеточные желтовато-белые отложения эозинофильного материала, локализующиеся между внутренним слоем мембраны Бруха и базальной мембраной пигментного эпителия сетчатки. Этот материал является продуктом метаболизма клеток пигментного эпителия сетчатки [40]. Липофусцин – «пигмент старения» – является основным источником активных форм кислорода и отвечает как за клеточные, так и внеклеточные матричные изменения в сетчатке. Wiktor A. с соавторами (2018) показал, что концентрация данного пигмента увеличивается с возрастом, достигая 19% от объема цитоплазмы к 90 годам. Липофусцин представляет собой внутриклеточные желто-коричневые аутофлуоресцирующие гранулы

размером 1-5 мкм, содержащие смесь липидов (фосфолипиды, холестерин, жирные кислоты), белков (кислая фосфатаза, арил-сульфатаза) и различных флуоресцирующих соединений [65, 92]. Полагают, что липофусцин образуется из-за фагоцитарной и метаболической недостаточности лизосомальной системы клеток РПЭ с накоплением фоторецепторных фрагментов наружных члеников палочек и колбочек с фотохимическими повреждениями.

Признаками «сухой» формы ВМД служат обширные друзы и прогрессирующая атрофия РПЭ, приводящая к постепенному снижению остроты зрения. Приблизительно у 10-20% пациентов при отсутствии лечения «сухая» форма переходит во «влажную» (неоваскулярную, нВМД), часто являющуюся причиной необратимого снижения центрального зрения. При этой форме заболевания со стороны сосудистой оболочки начинается врастание аномальных новообразованных сосудов под сетчатку. Все это ведет к дегенерации фоторецепторов и значительному снижению зрения [13].

В настоящее время процесс старения привлекает внимание многих исследователей [98, 200]. В процесс старения, как известно, вовлечены сложные механизмы, в которых принимают участие самые различные молекулярные системы – иммуномодуляторы, ростовые факторы, гормоны, нейrogормоны, рецепторы и другие белки [82, 117, 132, 138]. Согласно некоторым авторам, старение может запускаться двумя механизмами: укорочением теломер и повреждением ДНК [48, 119], что индуцирует клеточное старение. Однако и тот, и другой механизмы старения в высокой степени зависят от p53-статуса, что было показано в исследовании, проведенном группой ученых из США [84].

Продукт гена-онкосупрессора p53 играет критическую роль в поддержании геномной целостности в клетках млекопитающих. Возможность p53 индуцировать апоптоз – важнейшая функция этого белка, делающая его фактором супрессии опухолей, и определяющая его важную роль в старении [198]. В отличие от некроза, представляющего собой гибель

клетки вследствие нарушения условий существования или прямого повреждающего действия внешних факторов, апоптоз является генетически запрограммированной формой гибели клетки, которая обусловлена включением через сигнальные пути механизмов, приводящих к деградации генетического материала и истощению энергетических ресурсов клетки [15].

В структурах глаза апоптоз можно наблюдать в пигментном эпителии сетчатки, в роговице, хрусталике, конъюнктиве и теноновой капсуле. Имеются данные, что кроме апоптоза в развитии ВМД играют роль другие типы клеточной смерти, такие как пироптоз, некроптоз и аутофагия [18, 79]. Регуляция апоптоза в развитии ВМД остаётся малоизученной, необходимо проведение дальнейших исследований по изучению закономерностей апоптоза в физиологической и репаративной регенерации.

По классификации ВОЗ, средний возраст пациентов с катарактой и ВМД варьирует на границе между пожилым и старческим. Следовательно, ВМД и катаракта часто сосуществуют у пациентов, поэтому обоснована настороженность в отношении повышения риска заболеваемости и прогрессирования ВМД после хирургии возрастной катаракты. Во-первых, это связано с выбросом медиаторов воспаления и цитокинов при проведении операции, дестабилизацией гематофтальмического барьера. Во-вторых, существует вероятная возможность фототоксического эффекта операционного микроскопа и повреждающего действия ультразвуковой энергии. В-третьих, индуктором изменений в макулярной зоне может быть изменение спектрального диапазона света, поступающего к сетчатке после удаления хрусталика [68, 131]. По результатам пятилетнего периода наблюдений, Но J. с соавторами (2018) продемонстрировал убедительные эпидемиологические данные, свидетельствующие о взаимосвязи между хирургией катаракты и неоваскулярной формой ВМД. Вместе с тем, имеются работы, напротив, указывающие на безопасность фактоэмульсификации возрастной катаракты в плане прогрессирования ВМД. В частности, согласно проведенным исследованиям ученых из Великобритании,



факоэмульсификация значительно улучшает зрение у пациентов с неоваскулярной ВМД и не усиливает прогрессирование заболевания [110, 121].

Отсутствие единой позиции исследователей относительно риска индуцированного хирургией катаракты прогрессирования ВМД, разнородность методологических подходов при формировании групп сравнения (степень зрелости катаракты, сопутствующая патология, энерго- и гидродинамические характеристики факоэмульсификации катаракты и т.д.), отсутствие анализа причинно-следственных патофизиологических взаимоотношений свидетельствуют о нерешенности проблемы, имеющей важное научное и практическое значение.

В последние годы показана ключевая роль цитокинов в развитии деструктивно-воспалительных, иммунных, пролиферативных процессов. Цитокины являются белковыми медиаторами межклеточных взаимодействий, которые продуцируются различными клетками организма, включая эндотелиоциты, фибробласты, макрофаги, лимфоциты, стромальные клетки и т.д., и в зависимости от своих свойств, выполняют различные регуляторные функции в норме и при развитии патологических процессов [17, 37].

Многочисленные исследования показали наличие цитокинов в слезной жидкости. Сообщалось о повышенном уровне воспалительных цитокинов в слезной жидкости при различных глазных заболеваниях [67, 75, 91, 142, 209].

За последнее десятилетие накопилось множество данных, свидетельствующих о наличии иммунных механизмов при ВМД, что привело к общему мнению о том, что воспаление является ключевым фактором развития данного заболевания. По данным научной литературы, хирургическое лечение катаракты относится к возможным факторам риска, способным привести к прогрессированию развития ВМД и связывают это, как с ролью цитокинов в патогенезе ВМД, так и с происходящим при проведении операции выбросом различных классов медиаторов воспаления,

включая цитокины, и возможным последующим повреждением гематоофтальмического барьера [76, 114].

Патогенетическая роль интерлейкина ИЛ-1 $\beta$  в развитии заболеваний сетчатки хорошо изучена. Было показано, что ИЛ-1 $\beta$  индуцирует ряд изменений в гематоофтальмическом барьере, включая рекрутирование лейкоцитов, повышенную проницаемость и изменения морфологии и функции эндотелиальных клеток. Другим хорошо известным действием ИЛ-1 $\beta$  является активация NF- $\kappa$ B (универсальный фактор транскрипции, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла). В ответ на связывание ИЛ-1 $\beta$  с ИЛ-1R идет сложная последовательность внутриклеточных сигнальных реакций, приводящая к активации NF- $\kappa$ B, что в конечном счете способствует экспрессии ИЛ-6 и других провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  и др.). Помимо мощной провоспалительной способности, ИЛ-1 $\beta$  также может индуцировать ангиогенез [93, 148].

Интерлейкин ИЛ-8 является провоспалительным хемокином, активатором и хемоаттрактантом для нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов, а также важным медиатором неоваскуляризации. Исследование, проведенное Liu J. и соавторами (2010) показало, что ИЛ-1 $\beta$  вызывает значительное увеличение продукции ИЛ-8. Таким образом, в процессе воспалительной реакции в сетчатке происходит перекрестное взаимодействие между различными цитокинами и хемокинами [128, 141].

К настоящему времени разработан и применяется в клинической практике целый ряд классификаций ВМД, каждая из которых обладает определенными преимуществами, но и не лишена недостатков.

В клинической офтальмологии ВМД принято подразделять на сухую (неэкссудативную) и влажную (экссудативную). Среди отечественных классификаций ВМД известна классификация Кацнельсона Л.А. с соавторами (1990), которая определяет стадию и форму заболевания: атрофическая, преддисциформная, дисциформная, рубцовая.

Классификация профессора Иванишко Ю.А. с соавторами (2006) отражает стадии патологического процесса: возрастная макулопатия (0; сухая; условно стабильная), возрастная макулодистрофия (1; сухая условно нестабильная), трансудативная (2), неоваскулярная (3), геморрагическая (4), пролиферативно-деструктивная (5) [20].

Среди зарубежных классификаций известна международная классификация Bird et al. (1995), в которой возрастная макулопатия подразделяется на раннюю и позднюю стадии. Ранняя стадия характеризуется появлением твердых и мягких друз более 63 мкм и/или зон дегенерации РПЭ. Поздняя стадия подразделяется на сухую (географическая атрофия) и влажную (экссудативная, дисциформная, неоваскулярная) формы [цит. по 11].

В последние годы, активно применяя в рутинной практике неинвазивный метод исследования – оптическую когерентную томографию (ОКТ) для диагностики и динамического наблюдения ретинальных изменений [26], практические офтальмологи чаще используют классификацию ВМД, предложенную на основании результатов проспективного многоцентрового рандомизированного клинического исследования AREDS (Age-Related Eye Disease Study – исследование по возрастным заболеваниям глаз), проводившегося в 1998-2001 годах. В этом крупном исследовании оценивались тяжесть и прогнозирование течения ВМД, факторы риска развития катаракты и ВМД. Данная классификация подробно описывает изменения сетчатки макулы при сухой макулодистрофии, определяет уровень макулярных изменений, а также эффективность терапии разрабатываемых формул, состоящих из антиоксидантов и минералов. Эта классификация включает в себя следующие категории:

1) отсутствие ВМД (категория 1 по AREDS) – друз нет совсем, либо есть несколько небольших друз (<63 микрон в диаметре);

2) начальная ВМД (категория 2 по AREDS) – комбинация множественных мелких друз, нескольких промежуточного размера друз (от 63 до 124 микрон в диаметре), либо аномалии пигментного эпителия (перераспределение пигмента);

3) промежуточная ВМД (категория 3 по AREDS) – промежуточного размера друзы с преобладанием крупных, хотя бы одна большая друза (>124 микрон в диаметре), либо географическая атрофия, не захватывающая центр фовеа;

4) развитая ВМД (категория 4 по AREDS) – характеризуется одним или более из следующих признаков (при отсутствии других причин):

а) географическая атрофия пигментного эпителия и хориокапилляров, захватывающая центр фовеа;

б) неоваскулярная макулопатия в виде одной из форм:

- хориоидальная неоваскуляризация;

- серозная и/или геморрагическая отслойка нейросенсорной сетчатки или пигментного эпителия;

- липидные экссудаты (вторичный феномен в результате хронического просачивания из любого источника);

- субретинальная (и под пигментным эпителием) фиброваскулярная пролиферация;

- дисковидный рубец.

## **1.2. Экспериментальные модели возрастной макулярной дегенерации**

Использование экспериментальных животных для моделирования офтальмопатологии дает возможность оценивать эффекты различных препаратов и новых методов лечения [25, 42]. Экспериментальные модели ВМД дают возможность выявить механизмы активации путей апоптоза: р53-зависимого, связанного с повреждением ДНК; р53-независимого, митохондриального (с изменениями экспрессии белков семейства bcl-2) [39].

В экспериментальной медицине известны модели ВМД, основанные на различного рода травматическом, фотоповреждающем воздействии на сетчатку, лазер-индуцированные модели хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) [9, 10], хирургические способы с применением интравитреальных инъекций проангиогенных веществ (например, рекомбинантных вирусных векторов со сверхэкспрессией VEGF, субретинальной инъекции клеток РПЭ и/или гранул полистирола) для имитации повышенной экспрессии VEGF, с целью вызвать ангиогенез [111, 166, 214].

Известен способ моделирования возрастной макулярной дегенерации, разработанный в 2013 году Бикбовым М.М., Файзрахмановым Р.Р. с соавторами. Данный способ основан на механическом повреждении пигментного эпителия центральной области сетчатки до его разрушения под контролем офтальмологического микроскопа. Несмотря на бесспорные преимущества, данная модель основана на механическом повреждении сетчатки, при этом вызывая острое воспаление в ответ на травматическое повреждение. Кроме того, ее недостатком является сложность дозирования интенсивности воздействия [11].

Для изучения ВМД может быть использована модель хориоидальной неоваскуляризации сетчатки, поскольку развитие субретинальной неоваскулярной мембраны характерно для этого вида дистрофии [34]. Так, в 2008 году Tee L.V. с соавторами получали ХНВ сетчатки и зрительного нерва у кроликов путем интравитреального введения VEGF.

В литературе описаны различные лазер-индуцированные модели ХНВ. Например, одна из первых лазер-индуцированных моделей, разработанная в 1989 году Dobi E.T. с соавторами, а также модель ХНВ, предложенная Liu W. с соавторами в 2015 году. В ходе моделирования с помощью повреждений лазером имеется возможность регулировать интенсивность воздействия, однако недостатками указанных моделей являются необходимость использовать высокий уровень мощности лазера для точного попадания луча,

а также опасность попадания в сосуды сетчатки и возникновения кровоизлияний [87, 143].

Известны также модели, основанные на световом воздействии. Повышенное хроническое воздействие света было идентифицировано как фактор риска развития ВМД [1]. В связи с этим, повреждение сетчатки светом хорошо зарекомендовало себя как модель дегенерации *in vivo*, имитирующая большинство основных характеристик ВМД человека [2, 3]. Кроме того, модель такого типа позволяет регулировать степень тяжести повреждения сетчатки путем манипулирования интенсивностью и продолжительностью воздействия света для получения необходимой степени дегенерации [4]. Однако ВМД является мультифакторным заболеванием, поэтому трудно найти универсальные экспериментальные модели для изучения этой патологии. Существующие экспериментальные модели не являются стандартизированными, поэтому отличаются у разных исследователей. Основные факторы, которые влияют на результат исследования – это длина волны и продолжительность воздействия. Анализ современных литературных данных показал вариативность источников облучения и длин волн, а также достигаемые с их помощью эффекты в зависимости от продолжительности воздействия (Таблица 1) [103, 108, 180, 186, 216].

Таблица 1 – Источники облучения, использованные при моделировании на животных дегенеративно-дистрофических заболеваний сетчатки

Объект исследования	Длина волны	Источник облучения	Продолжительность воздействия	Эффект
Крыса	380 нм	Ксеноновая дуговая лампа	3 дня (по 8-23 мин. ежедневно)	Повреждение фоторецепторных клеток (особенно палочек)
Крыса	470 нм	Ксеноновая дуговая лампа	3 дня (по 5 ч. ежедневно)	Повреждение фоторецепторного слоя и РПЭ
Мышь	410 нм	Источник синего света	Однократно (30 мин.)	Отек сетчатки, гибель фоторецепторных

				клеток (особенно колбочек), разрушение гематоретинального барьера
Крыса	647 нм	Криптоновый лазер	Однократно (360 мВт, 50 мкм, 0,05 с)	Неоваскуляризация хориоидеи
Кролик	350-650 нм	Галогенная волоконно-оптическая лампа	Однократно (120 минут, 150 Вт)	Окислительный стресс сетчатки
Кролик	350-650 нм	Галогенная волоконно-оптическая лампа	1 неделя (ежедневно по 120 мин., 150 Вт)	Апоптоз
Кролик	530 нм	Гелий-неоновый лазер	Однократно (0,1 с, 400 мВт)	Очаговое повреждение сетчатки
Кролик	488-514 нм	Аргонный лазер	Однократно (0,8-1 Вт)	Неоваскуляризация хориоидеи
Кролик	530 нм	Гелий-неоновый лазер	Однократно (0,1-0,5 с, 500-1000 мВт)	Острая ишемия
Крыса	532 нм	Алюмоиттриевый лазер	Однократно (150-200 мВт, 0,15 с)	Неоваскуляризация хориоидеи

Из Таблицы 1 наглядно видно, что для реализации различных связанных с ВМД исследований используют различные виды лабораторных животных, различные источники облучения, длины волн и экспозиции, что приводит к различным эффектам на сетчатке.

В частности, модель повреждения ретинального пигментного эпителия кроликов световым воздействием мощностью  $140 \text{ мВт/см}^2$  в течение двух часов на поверхность роговицы, разработанная в 2003 году Kawano T. и Kato M. В 2012 году Заком П.П. с соавторами была разработана модель макулярной дегенерации, включающая облучение синим светодиодом ( $\lambda_{\text{макс}}=450 \text{ нм}$ ) (LED450) поверхности роговицы в фотоповреждающей (сублетальной) для сетчатки дозе  $4 \text{ Дж/см}^2$ , что достигалось при 40-минутной экспозиции. Облучение глаз выполняли на интактных птицах (*Coturnix japonica*) при «ручной» фиксации головы по отношению к световому потоку

и расширенных веках. Эффекты фотоповреждения оценивали спустя 1 сутки в сравнении с парным необлученным глазом [19, 130]. Недостатком способа является то, что он основан на фототоксическом воздействии и поглощении излучения всеми структурами глаза, и, соответственно, их изменения могут вызвать формирование других патологий глаза, таких как кератопатия, катаракта и т.д.

На экспериментальных моделях животных воссозданы многие гистологические особенности ВМД, получено достаточно данных об основных патологических механизмах заболевания. Несмотря на большое количество разработанных моделей, ни одна из них не воспроизводит все особенности ВМД. Однако в настоящее время исследователи могут использовать сильные стороны каждой отдельной экспериментальной модели, признавая при этом ее слабые стороны [166].

Центральная зона сетчатки (*area centralis*) обеспечивает наивысшую разрешающую способность. У человека *area centralis* морфологически представлена жёлтым пятном (*macula lutea*) с фовеа. У других групп млекопитающих, кроме приматов, центральная зона образована гомологичными жёлтому пятну и ямке структурами. Так, у кролика центральная зона не содержит жёлтый пигмент и представлена полосой повышенной остроты зрения – зрительной полоской. Здесь также повышена плотность фоторецепторов и ганглионарных клеток, уменьшена конвергенция фоторецепторов на ганглионарные клетки. Учитывая всё вышеизложенное, можно полагать, что гомологичные структуры глаз человека и кролика, обеспечивающие наивысшую остроту зрения и образованные одними и теми же гистологическими элементами, при воздействии импактных факторов (механическое или фототоксическое разрушение) характеризуются стереотипным комплексом патоморфологических реакций, отражающих один и тот же патогенетический путь утраты функциональных возможностей центральной зоны сетчатки: представленной либо жёлтым пятном с фовеа, либо – зрительной полоской.



Кроме того, в зрительной полоске также нет кровеносных сосудов, что в большей степени подчеркивает адекватность модели для изучения ВМД человека с использованием кролика как объекта исследования [73, 139, 204].

Хроническое воздействие на крыс света средней интенсивности приводило к дегенерации сетчатки. Подобный феномен был продемонстрирован у голландских поясных кроликов, при этом порог воздействия был значительно выше, чем у крыс. В исследовании Saenz-de-Viteri M. с соавторами (2014) было показано, что фототоксичность вызывает апоптотическую гибель и активацию воспалительных процессов у кроликов при моделировании ретинальной фототоксичности [180].

В целом создание моделей ВМД, учитывая патогенетические факторы, такие как хроническое воспаление, фототоксическое воздействие света на сетчатку, имеет многопрофильную востребованность и нуждается в адекватных экспериментальных условиях.

### **1.3. Роль мелатонина в регуляции обменных процессов в сетчатке**

В последние годы внимание исследователей привлечено к потенциальным лечебным свойствам мелатонина. Нейрогормон мелатонин, открытый в 1958 году Лернером А.Б., оказывает влияние на большинство биологических и физиологических процессов [81]. Он образуется из триптофана в клетках эпифиза – пинеалоцитах. Под действием фермента триптофангидроксилазы триптофан превращается в 5-гидрокситриптофан, который декарбоксилируется с образованием серотонина. Синтез мелатонина из серотонина катализируется с участием двух ключевых ферментов: N-ацетилтрансферазы и гидроксииндол-О-метилтрансферазы [57]. Секреция мелатонина подчинена суточному ритму. Информация об освещенности передается от сетчатки на шишковидную железу через супрахиазматическое ядро гипоталамуса и симпатическую нервную систему. Нейроны передают

железе сигнал в виде норэпинефрина, что приводит к выделению мелатонина [1].

В дневное время суток клетки фоторецепторов сетчатки гиперполяризованы, что ингибирует высвобождение норадреналина, продукцию N-ацетилтрансферазы и, следовательно, мелатонина [182]. С наступлением темноты, фоторецепторы активируют синтез норадреналина, тем самым активируя всю систему через  $\alpha 1$  и  $\beta 1$  адренорецепторы эпифиза. Затем следует увеличение активности N-ацетилтрансферазы в 30-70 раз и, как следствие, увеличиваются синтез и выделение мелатонина. Синтез и секреция мелатонина стимулируются в темноте и тормозятся на свету. Сразу после синтеза гормон поступает в кровь путем пассивной диффузии.

Концентрации мелатонина в сыворотке значительно различаются в зависимости от возраста. Максимальный уровень мелатонина наблюдается у новорожденных, с возрастом его количество уменьшается, и наименьшие значения фиксируются у пожилых людей [116]. По данным Farajnia S. с соавторами (2010), этот факт, возможно, объясняется снижением функции супрахиазматического ядра. Классический путь метаболизма мелатонина происходит в печени в результате гидролиза с дальнейшей экскрецией смочой, основным метаболитом является 6-гидроксимелатонин-сульфат, содержание которого позволяет косвенно судить о продукции мелатонина эпифизом [94, 162]. Также существует альтернативный индолный путь (с образованием 5-метоксииндол уксусной кислоты или 5-метокситриптофола) и кинураминовый путь (конечным продуктом которого является N1-ацетил- N2-формил-5-метилкинурамин) [77, 183].

Однако мелатонин вырабатывается не только в эпифизе, его синтез возможен почти во всех органах. Он обнаружен в желудочно-кишечном тракте, тимусе, глазном яблоке, сердце, половых железах, антральных фолликулах, в различных ядрах гипоталамуса, кардиомиоцитах [3, 27] и других тканях нейрогенной и иной природы.

В сетчатке мелатонин выделяется в основном фоторецепторными клетками [61]. Было показано, что сетчатка крысы продолжала вырабатывать мелатонин в соответствии с циркадным ритмом даже после пинеалэктомии [175]. Таким образом, выработка мелатонина сетчаткой находится под контролем циркадных часов сетчатки, что приводит к его высокой концентрации ночью и низкому уровню днем, хотя его количество невелико по сравнению с пинеальным аналогом [56, 194]. Как и в эпифизе, ночной синтез мелатонина в ретинальных фоторецепторах млекопитающих имеет своим предшественником аминокислоту триптофан [161, 215]. Триптофан является протеиногенной аминокислотой и входит в состав белков всех известных живых организмов.

Один из ферментов синтеза мелатонина – арилалкиламин-N-трансфераза (фермент, который регулирует циркадные ритмы человека и животных, «фермент времени», контролирует синтез гормона мелатонина) находится под локальным контролем, так как его транскрипция в фоторецепторах регулируется циркадными часами, независимыми от гипоталамуса [61]. Другим ферментом, необходимым для биосинтеза мелатонина в сетчатке, является триптофан-гидроксилаза, превращающая триптофан в 5-гидрокситриптофан, экспрессия которого в сетчатке контролируется циркадным образом, проявляя аналогичный суточный ритм активности арилалкиламин-N-трансферазы [152]. Хотя рецепторы мелатонина, MT1 и MT2, присутствуют в сетчатке человека, присутствие ацетилсеротониновой метилтрансферазы очень низкое, поэтому рецепторы сетчатки также могут связывать циркулирующий мелатонин [50]. Мелатонин, синтезируемый в сетчатке, инактивируется иным способом, отличным от способа утилизации эпифизарного мелатонина. Предполагается, что вначале мелатонин сетчатки подвергается деацетилированию, который в последующем метаболизируется так же, как индоламины и катехоламины, до формирования 5-метоксииндолацетиловой кислоты или превращения в 5-метокситриптофол [109].

У млекопитающих действие мелатонина осуществляется посредством активации высокоаффинных рецепторов, связанных с G-белками – MT1 и MT2 и, возможно, рецептора MT3 [194]. Мелатониновые рецепторы MT1 и MT2 отрицательно связаны с аденилатциклазой и являются наиболее изученными [80, 141]. О структуре рецептора мелатонина MT3 информации недостаточно. Вероятно, он связан с фосфолипазой C, однако в последних исследованиях высказано предположение, что рецептор MT3 является цитозольным ферментом (хинонредуктазой 2) [160, 197].

Рецептор MT1 был впервые обнаружен почти 20 лет назад группой ученых из Бостона у лягушек, в более поздних исследованиях – у млекопитающих и у людей [89, 179]. Рецептор MT1 имеет длину 350 аминокислот, связан с G-белком и кодируется геном MTNR1A. Рецептор MT2 был обнаружен ученым из США Reppert S.M. и его коллегами (1995) в организме человека; рецептор состоит из 363 аминокислот, гомологичен на 60% рецептору MT1, также связан с G-белком и кодируется геном MTNR1B [178].

Рецептор MT3 на данный момент обнаружен только в организме хомяка и в сетчатке кролика. В отличие от MT1 и MT2 не связывается с G-белками. Имеет 95% гомологию с человеческой хинонредуктазой 2-цитозольным ферментом, который катализирует восстановление хинонов, таких как менадион и кофермент Q [145]. Данные рецепторы показывают различное сродство к мелатонину: MT2 имеет в 5 раз более высокое сродство, чем MT1, как у человека, так и у других организмов [137]. MT3 обладает более низкой аффинностью к мелатонину.

Обобщая ряд проведенных исследований на разных живых организмах (птицы, кролики, крысы, человек), предполагают следующее распределение мелатониновых рецепторов в структуре глаза: в роговице встречаются все три вида рецепторов; в хрусталике – MT2 и MT3; в цилиарном теле – MT2, в склере – MT1 и MT2; в сосудистой оболочке – MT1.

Сетчатка глаза обладает собственным циркадианным осциллятором, в соответствии с фазой которого регулируется скорость синтеза мелатонина. Мелатонин может являться тем посредником, с помощью которого циркадианный осциллятор осуществляет регуляцию циркадианных ритмов в сетчатке. Способность мелатонина «менять световосприятие» определяется его сложным влиянием на функцию различных клеточных элементов сетчатки. На вертикальных срезах сетчатки здоровых людей иммуногистохимическим методом с использованием специфических антител для рецепторов мелатонина показано, что оба типа рецепторов (MT1 и MT2) демонстрируют сходный уровень экспрессии в слоях ганглионарных, горизонтальных нейронов и во внутренних сегментах фоторецепторов. В то же время в клетках пигментного эпителия обнаружены лишь MT2, но не MT1 рецепторы, как и оба типа ядерных орфановых рецепторов [4, 161] (Рисунок 1).

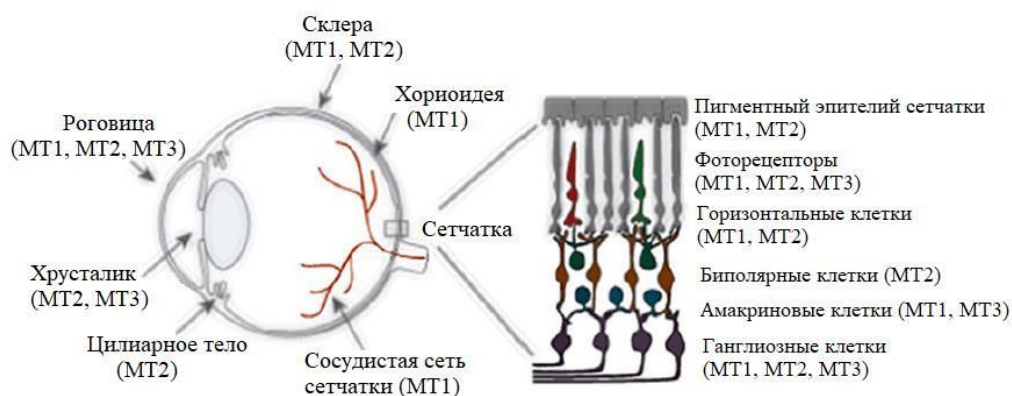


Рисунок 1 – Распределение рецепторов мелатонина в структурах глаза и клетках сетчатки (Ostrin L.A., 2019)

Группой ученых из США было показано, что удаление рецепторов MT1 у лабораторных животных приводит к небольшому (3-4 мм рт. ст.) повышению уровня внутриглазного давления в течение ночи, а также значительной потере (25-30%) клеток ганглиозного слоя сетчатки в процессе старения [185]. Совместное исследование ученых из Франции и США, проведенное на мышах, свидетельствует о том, что нарушение MT1/MT2

индуцирует уменьшение количества фоторецепторов в процессе старения [105].

Мелатонин является антиоксидантной и противовоспалительной молекулой и может действовать через механизмы, не опосредованные рецепторами (например, служит в качестве поглотителя активных форм кислорода и активных видов азота). В первую очередь мелатонин способен нейтрализовать гидроксильный радикал ( $\text{HO}^\cdot$ ), перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), оксид азота ( $\text{NO}^\cdot$ ) и различные другие вещества [102]. Мелатонин, помимо того, что является антиоксидантом широкого спектра действия, может также активировать цитопротекторные ферменты [52]. С помощью общего транскрипционного механизма он может подавлять экспрессию провоспалительных генов, к которым, например, относят циклооксигеназу-2 (COX2) и индуцибельную изоформу синтазы оксида азота (iNOS) [81]. Мелатонин активирует Nrf2-фактор и тем самым увеличивает экспрессию антиоксидантных ферментов [44, 51].

Наряду с экзогенными источниками активных форм кислорода (ультрафиолетовый свет, видимый свет, ионизирующее излучение, химиотерапевтические препараты, токсины окружающей среды и т.д.), митохондрии, возможно, также вносят значительный вклад в их производство [48, 49]. Мелатонин в свою очередь способен поддерживать оптимальный мембранный потенциал митохондрий, сохранять митохондриальные функции и улучшать митохондриальный биогенез [189].

В физиологических и фармакологических концентрациях мелатонин ослабляет или противодействует окислительному стрессу и регулирует клеточный метаболизм [154]. Некоторые из этих защитных эффектов мелатонина связаны с его метаболитом N1-ацетил-N2-формил-5-метоксикинурамин, который образуется в результате кинураминового пути метаболизма мелатонина [101]. Мелатонин, обладающий антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, регулирующий циркадный ритм и митохондриальные функции, может представлять мощный инструмент для

противодействия возрастным изменениям, в том числе болезням глаз [47, 133, 184, 188].

Мелатонин синтезируется в фоторецепторных клетках сетчатки и, возможно, хрусталике и цилиарном теле [45, 80]. Кроме того, специфические рецепторы мелатонина расположены в ряде других внутриглазных структур, что еще раз подчеркивает его важную роль в биохимических и физиологических процессах глаза [161]. В настоящее время накоплено большое количество доказательств участия оксидативного стресса в развитии многих глазных заболеваний, включая катаракту, глаукому, возрастную макулярную дегенерацию и диабетическую ретинопатию [55, 64, 146, 190]. Все эти патологические состояния связаны с возрастом, и, следовательно, они могут быть результатом дисбаланса между генерацией активных форм кислорода и экспрессией антиоксидантных ферментов. В данном контексте, с одной стороны, митохондрии клеток сетчатки являются источником антиоксидантного и белкового восстановления системы, но с другой стороны, одновременно служат основным эндогенным источником активных форм кислорода [50].

Накопленные данные свидетельствуют о том, что окислительный стресс в клетках РПЭ является важнейшим аспектом патофизиологии ВМД. Мелатонин обеспечивает защиту от  $H_2O_2$ -индуцированных активных форм кислорода.  $H_2O_2$  может привести к клеточному апоптозу через увеличение связанных с апоптозом белков (Bax, Cyt и каспазы 7) в клетках. Однако этот процесс значительно снижается при действии мелатонина, предотвращающего  $H_2O_2$ -стимулированный апоптоз клеток, который может быть тесно связан с антиапоптотическим и антиоксидантным эффектами мелатонина (Рисунок 2).

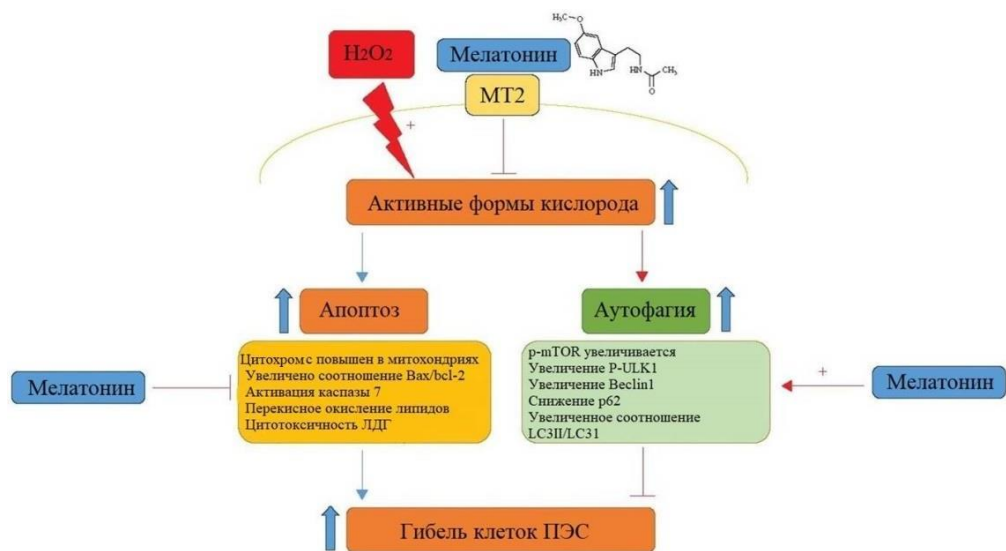


Рисунок 2 – Эффекты мелатонина при повреждении клеток РПЭ  
(Chang C.C. et al., 2018)

Одним из новых открытий является способность мелатонина снижать уровень  $H_2O_2$ -индуцированного повреждения РПЭ через аутофагию. Аутофагия имеет решающее значение для поддержания гомеостаза клеток РПЭ, поскольку происходит удаление дисфункциональных органелл и белков. Недостаточное питание РПЭ из-за нарушения аутофагии вызывает накопление поврежденных органелл и токсичных белков, что может способствовать дисфункции РПЭ и развитию ВМД. Аутофагия регулируется несколькими сигнальными путями. Было показано, что мелатонин ингибирует mTOR (сигнализация mTOR является отрицательным регулятором аутофагии) и увеличивает аутофагические маркеры (LC3-II и Beclin-1) и тем самым способствует аутофагии [71, 99, 169].

#### 1.4. Мультимодалное протекторное действие мелатонина при возрастной макулярной дегенерации и хирургии катаракты

Клетки РПЭ постоянно подвергаются окислительному стрессу. Наружные сегменты фоторецепторов фагоцитируются РПЭ; этот процесс называется гетерофагией. Клеточные элементы деградируют в лизосомах. В



старых клетках РПЭ липофусцин накапливается в лизосомах в результате одновременного снижения активности лизосомальных ферментов и аутофагии. Липофусцин – это аутоокислитель, который увеличивает повреждения, вызванные окислительным стрессом в митохондриальной и ядерной ДНК. Нарушенный клиренс и накопленные токсические соединения в РПЭ запускают воспаление и объясняют ВМД-ассоциированный биогенез внеклеточного образования друз. Мелатонин одновременно подавляет окислительные повреждения и воспаление [61].

Агрегация белков в стареющих клетках РПЭ играет важную роль в патогенезе ВМД (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Агрегация белков в клетках РПЭ при ВМД (Blasiak J. и др., 2016)

Иммуномодулирующее свойство мелатонина связано с его способностью ограничивать выраженность воспалительного процесса. Противовоспалительная активность мелатонина зависит от комплекса механизмов, включая вмешательство в каскад арахидоновой кислоты, ограничение процессов оксидантного стресса, иммуномодуляцию [5]. Мелатонин путем ингибирования транскрипционных факторов NFκB и AP-1 подавляет экспрессию ряда провоспалительных цитокинов: интерлейкины 6

и 8, фактора некроза опухоли, что в свою очередь пресекает реакции, которые запускались этими цитокинами. Мелатонин снижает проницаемость тканевых барьеров (в том числе гематофтальмического), резко возрастающую при воспалении [12, 41].

В 2016 году группа ученых из Аргентины показала, что мелатонин уменьшал появление хирургических осложнений после факоэмульсификации катаракты у собак, благодаря его сходному противовоспалительному эффекту с нестероидными и стероидными препаратами, используемыми местно в инстилляциях [181].

В опытах на новорожденных крысах при повреждении сетчатки в результате гипоксии мелатонин оказывал нейропротекторное действие на ганглиозные клетки благодаря своим антиоксидантным и антиапоптотическим свойствам [71, 129]. Мелатонин подавлял в сетчатке экспрессию каспазы-3, VEGF и других ангиогенных пептидов, индуцибельной NO-синтазы, увеличивал уровень глутатиона, снижал проницаемость гематоретинального барьера и уменьшал утечку цитохрома C из митохондрий ганглиозных клеток в цитозоль, сохраняя таким образом их функциональную активность [129]. Все это говорит о возможности применения мелатонина в терапии заболеваний сетчатки различного генеза. В работе Park S.Y. с соавторами (2010) указано, что одним из важных свойств мелатонина является его способность ингибировать ангиогенез [163].

При анализе литературных данных были выявлены следующие терапевтические дозы мелатонина, которые использовали для лечения в экспериментальных моделях офтальмологических заболеваний у лабораторных животных (Таблица 2). Представленные дозы мелатонина, продолжительность и вид введения не являются стандартизированными в экспериментах, поэтому отличаются у разных исследователей [71, 85, 113, 121, 171, 181, 188].

Таблица 2 – Терапевтические дозы мелатонина в экспериментальных моделях офтальмологических заболеваний у лабораторных животных

Объект исследования	Исследуемая патология	Вводимая доза	Продолжительность введения	Вид введения
Крыса	Катаракта	5 мг/кг/сут	10 дней	Внутрибрюшинно
Крыса	Катаракта	0,2 мг/мл	1 неделя	Внутрибрюшинно
Крыса	Катаракта	4 мг/кг	17 дней	Внутрибрюшинно
Крыса	Катаракта	10 мкг/г	Однократно	Внутрибрюшинно
Собака	Катаракта	0,3 мг/кг	180 дней	Перорально
Кошка	Увеит	0,3 мг/кг	45 дней	Перорально

Сравнительно недавно было описано присутствие фотопигмента меланопсина в клетках хрусталика человека. В настоящее время считается, что он участвует в регуляции циркадных ритмов, ингибировании синтеза мелатонина, зрачковом рефлексе и формировании зрительных образов. Обнаружение меланопсина в тканях хрусталика доказывает, что мелатонин глаза синтезируется и присутствует не только в сетчатке и цилиарном теле, но и в хрусталике [45]. В нескольких исследованиях было показано, что хирургия катаракты влияет на секрецию мелатонина [106, 159]. В исследовании Bardak Y. и коллег (2000) было выявлено, что внутрибрюшинное введение мелатонина лабораторным крысам (4 мг/кг ежедневно в течение 1 недели) после воздействия ультрафиолетовыми лучами, может защитить от развития катаракты, путем прямого обезвреживания липидных пероксидов и опосредованного увеличения продукции эндогенного антиоксиданта глутатиона. Ряд исследований демонстрирует, что прием экзогенного мелатонина значительно увеличил средний уровень мелатонина в сыворотке крови [54, 199].

В 2016 году группа ученых из Бразилии в рандомизированном клиническом исследовании показала, что мелатонин в дозе 3 мг может быть рекомендован для профилактики мигрени и бессонницы, что в дальнейшем было подтверждено рядом других исследований [58, 107]. Результаты исследований показывают, что мелатонин имеет большое преимущество в

лечении патологий, которые в своем патогенезе имеют тканевые и молекулярные повреждения, вызванные окислительным стрессом [177].

В 2017 году Carracedo G. с соавторами показали, что утром и вечером уровень мелатонина у человека в слезной жидкости оставался стабильным, но он удваивал концентрацию в течение ночи. Похожие результаты были обнаружены в других тканях, таких как сетчатка, плазма и шишковидная железа, по данным Zawilska J. (2003). Несмотря на то, что этот нейрогормон был обнаружен на глазной поверхности, немного известно о его роли. Возможно, он участвует в регуляции секреции слезной жидкости, а также в удалении активных форм кислорода, что, следовательно, защищает глазную поверхность.

Своими многочисленными положительными эффектами мелатонин привлек внимание ученых-офтальмологов. Объединяя ряд доклинических и клинических исследований, было установлено, что прием 3 мг мелатонина в течение 3 месяцев снижал прогрессирование ВМД [210]. В дальнейшем другими учеными также было подтверждено, что оптимальная продолжительность приема мелатонина пациентами с ВМД также составляет 3 месяца [61, 172].

В последние годы рядом ученых уделяется большое внимание цитокиновому профилю слезной жидкости у пациентов с ВМД, так как выявлена прямая взаимосвязь между дисфункцией иммунной системы и катализом индукции VEGF [203].

В настоящее время продолжается активная дискуссия относительно возможного влияния неосложненной хирургии катаракты на течение неэкссудативной ВМД. Авторами отмечается как стабильность ВМД [90], так и случаи ее прогрессирования [112]. Вместе с тем результаты Кокрейновского обзора публикаций, посвященных этому вопросу, указывают на потребность дальнейшего изучения влияния катарактальной хирургии на течение ВМД [68]. При этом в качестве физиологического фактора, обладающего мультимодальным действием, направленным на снижение

риска развития ВМД, перспективным представляется изучение возможностей мелатонина.

Таким образом, мелатонин активно участвует в ряде биохимических процессов, обеспечивающих функционирование зрительного анализатора. Следовательно, изменение его концентрации может играть важную роль в патогенезе возрастных изменений глаза, таких как катаракта и ВМД. Существующая тенденция к увеличению распространенности ВМД у населения, в том числе у работоспособной части, с возможной потерей профессиональной деятельности свидетельствует о необходимости раннего выявления факторов риска, своевременной профилактики и лечения. Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по данной проблеме показал: актуальность медикаментозных подходов применения мелатонина при ВМД; высокий потенциал применения экспериментальных моделей ВМД на лабораторных животных с целью изучения патофизиологии данного заболевания и стратегий его лечения; в то же время отсутствие информации о концентрации мелатонина в слезной жидкости условно-здоровых пациентов и пациентов с ВМД и катарактой, а также его корреляции с клинικο-морфологическими и иммунологическими показателями. Все вышеуказанное и определило актуальность данного диссертационного исследования.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Данная работа представляет собой двухэтапное исследование: первый этап – экспериментальная часть, включающая оценку реорганизации, про- и антиапоптотической характеристик цитоархитектоники сетчатки в эксперименте. После получения результатов экспериментальных исследований и проведенного анализа морфологических критериев приступили ко второму этапу – клинической части, которая включала проведение клинико-лабораторных исследований у пациентов с ВМД и возрастной катарактой.

### **2.1. Общая характеристика материалов экспериментальных исследований, дизайн исследования**

Экспериментальная часть выполнялась на 21 глазу 21 половозрелого кролика-самца породы шиншилла массой от 2800 до 3300 г. Период наблюдения 2017-2018 гг.

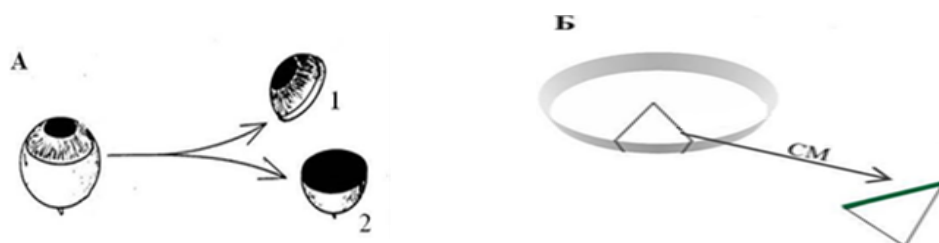
Все животные были получены и находились в условиях вивария в клинике экспериментальных животных ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. Дальнейшие гистологические исследования выполнялись на базе кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии данного университета под руководством заведующего кафедрой доктора биологических наук, профессора Стадникова А.А.

**Материалы экспериментальных исследований.** В данном исследовании подопытные животные были разделены на три группы:

- 1-я (опытная) группа – 9 кроликов (9 глаз);
- 2-я (контрольная) группа – 9 кроликов (9 глаз);

- 3-я (интактная) группа – 3 кролика (3 глаза).

Протокол экспериментов был составлен в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики (GLP) и требованиями нормативных документов по проведению медико-биологических исследований на животных (Директива 2010\63\ EU; ГОСТ 33044-2014). Животным 1-й и 2-й групп хирургическим путем была сформирована модель центральной дегенерации сетчатки. В 1-й (опытной) группе на 1-е сутки после вмешательства было начато пероральное введение суспензированного раствора препарата мелатонина («Melaxen» – код АТХ: N05CH01; действующее вещество: мелатонин; производитель: Unipharm, Inc., США) в дозе 10 мл/кг ежедневно 1 раз в день с 21.00 до 22.00 ч. Препарат вводили в течение 3 месяцев. Экспериментальных животных выводили из эксперимента на 30-е, 60-е, 90-е сутки в следующем порядке: по 3 кролика из опытной и контрольной групп и 1 кролик из интактной группы. Животных выводили из эксперимента методом воздушной эмболии после введения кролика в наркоз (согласно приказу Минвуза СССР № 724 от 13.11.1984). Энуклеированные глазные яблоки фиксировали в забуференном 10% формалине, выделенную центральную часть сетчатки готовили для морфологического исследования. Глаз энуклеировали и выделяли заднюю полусферу, содержащую сетчатку. Для световой микроскопии срезы изготавливали с боковых сторон кусочков (Рисунок 4).



А – схема разрезания глазного яблока на передний (1) и задний (2) глазные бокалы;  
Б – схема рассечения заднего глазного бокала; СМ – световая микроскопия

Рисунок 4 – Препарирование глаз кролика

Дизайн экспериментальной части исследования представлен на Рисунке

5.



N – количество экспериментальных животных,  
n – количество гистологических объектов исследования клеток (100 полей зрения)

Рисунок 5 – Схема проведения экспериментальной части исследования

## 2.2. Методы экспериментальных исследований

Световую микроскопию проводили на микроскопе MX 300 (MicroOptix, Австрия). Светооптическое исследование с последующим анализом и микрофотографированием при помощи цифровой фотокамеры Canon IXUS 800 IS (Япония).



**Морфологические исследования.** Использовали фиксацию в 10% растворе забуференного формалина при комнатной температуре. После стандартной гистологической проводки материал заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5-6 мкм изготавливали на ротационном микротоме Meditome-530 (Medite GmbH, Германия). Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином по общепринятой методике. Изучение полученных тканей сетчатки осуществляли на светооптическом уровне с последующим анализом и микрофотографированием при помощи цифровой фотокамеры Canon IXUS 800 IS (Япония).

**Иммуногистохимические исследования.** Иммуногистохимия (ИГХ) – это метод локализации специфических антигенов в тканях, основанный на распознавании антигена соответствующим антителом и выявлении результатов этого связывания на светооптическом уровне. ИГХ- исследования проводили с использованием руководств Петрова С.В. (2012) и Kumar G.L. (2011) в следующей последовательности: депарафинирование и регидратация фиксированных в формалине и залитых в парафин срезов (ксилол – спирт 96° – спирт 70° – дистиллированная вода – PBS); инкубирование с Hydrogen Peroxide Block (перекись водорода); демаскировка антигена нагреванием в 0,01 М цитратном буфере, pH=6,0 (HIAR – heat- induced antigen retrieval); инкубирование с Peroxidase Blocking Reagent; инкубирование срезов с Serum Blocking Reagent G или Serum Blocking Reagent D; инкубирование срезов с Avidin Blocking Reagent; инкубирование срезов с Biotin Blocking Reagent; инкубирование срезов с первичными антителами; инкубирование срезов с Biotinylated Secondary Antibody; инкубирование срезов с HSS-HR; инкубирование срезов с DAB Chromogen.

ИГХ-методами определяли экспрессию проапоптотического белка p53 и антиапоптотического белка bcl-2. Для идентификации клеток с признаками апоптоза кусочки сетчатки после фиксации в забуференном формалине обезвоживали и заливали в парафин. Исследование проводили на серийных

парафиновых срезах толщиной 4-5 мкм, которые помещали на высокоадгезивные стекла (Polysine Slides, Menzel GmbH & Co KG, Германия). Для гистологической оценки про- и антиапоптотической характеристик клеток сетчатки проводили иммуногистохимическое исследование полученных тканей сетчатки глаз экспериментальных животных с проведением двухэтапных реакций по идентификации белка – маркеров апоптоза p-53 и антиапоптотического белка bcl-2. В данном исследовании использовали реактивы:

- система детекции РИВИАЛ поливалентная безбиотиновая ДАБ, 60 мл, (D&A, REVEAL - Biotin-Free Polyvalent DAB, 60 ml, RTU), производитель – Спринг Биосайенс Корпорейшн (США);

- мышинные моноклональные антитела к bcl-2 – bcl-2 Mouse Monoclonal Antibody – фл., конц. (мл) 0,1, производитель – Cell Marque Corporation (США);

- мышинные моноклональные антитела к p53 – p53 Mouse Monoclonal Antibody – фл., конц. (мл) 0,1, производитель – Cell Marque Corporation (США).

Морфометрические показатели структурных элементов сетчатки глаза кроликов в условиях эксперимента (моделирование центральной дегенерации сетчатки) получены с использованием винтового окуляра-микрометра МОВ 4У (об.40, ок. 10) в условных полях зрения (окулярная вставка 0,25 мм<sup>2</sup>).

### **2.3. Общая характеристика клинического материала исследования, дизайн клинической части исследования**

Обследованы 140 пациентов (140 глаз), из них женщин – 65%, мужчин – 35%. Возраст пациентов варьировал от 57 до 75 лет, и в среднем составил 63 года. Группы были сопоставимы по половому составу, возрастным характеристикам и сопутствующей патологии. В ходе исследования было сформировано пять групп:

- **1-я (основная группа)** – 40 пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД, принимавшие мелатонин («Melaxen» 3 мг на ночь) в течение 3 месяцев перед факоэмульсификацией возрастной катаракты. Мелатонин назначали пациентам основной группы, исходя из их жалоб на бессонницу. Препарат «Melaxen» является аналогом биогенного амина мелатонина и представляет собой адаптогенное средство. Препарат получен из аминокислот природного происхождения. Помимо своего основного предназначения (налаживается режим сна и бодрствования, улучшается качество сна, снижается выраженность стресса), данное лекарственное средство стимулирует естественный иммунитет и оказывает на организм антиоксидантное действие. Даже при длительном использовании препарат не вызывает привыкания и зависимости (инструкция к применению препарата «Melaxen»);

- **2-я (контрольная группа)** – 40 пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД, не принимавших мелатонин перед факоэмульсификацией возрастной катаракты.

Критерии включения в основную и контрольную группы: плотность ядра хрусталика по Буратто соответствовала 1-й степени (12 глаз – 15%), 2-й степени (68 глаз – 85%); по классификации AREDS: ранняя и промежуточная стадии ВМД – AREDS 2-3. Группы были сопоставимы по наличию у пациентов возрастной катаракты и ВМД (AREDS 2-3), планируемых на хирургическое лечение.

Критерии исключения из исследования: офтальмологическая патология (глаукома, воспалительные заболевания глаз, травмы, сосудистые нарушения в анамнезе, отсутствие четкой визуализации (офтальмоскопия, ОКТ) макулярной зоны сетчатки до факоэмульсификации катаракты, наличие макулярной неоваскуляризации, интра- и послеоперационные осложнения в раннем периоде после хирургии катаракты, сопутствующая соматическая патология (сахарный диабет, аллергические реакции, аутоиммунные заболевания, эпилепсия, лейкоз, лимфома, хроническая почечная

недостаточность; пациенты, принимающие препараты, обладающие угнетающим действием на ЦНС, бета-адреноблокаторы, ингибиторы МАО, глюкокортикостероиды и циклоспорин – противопоказания к применению препарата «Melaxen»).

**Референтные группы (группы сравнения 3, 4, 5)** были сформированы, исходя из стадии ВМД по классификации AREDS. Пациентам из этих групп однократно проводили забор материала (слезная жидкость, сыворотка крови) для определения концентрации мелатонина и сравнительного анализа в дальнейшем.

- **3-я группа (условно-здоровые, 1-я референтная)** – 20 пациентов – 1-я степень плотности ядра хрусталика по Буратто (факосклероз), по классификации AREDS 1 (отсутствие ВМД);

- **4-я группа (2-я референтная)** – 20 пациентов – 1-я степень плотности ядра хрусталика по Буратто, по классификации AREDS ранняя и промежуточная стадии ВМД – AREDS 2-3.

- **5-я группа (3-я референтная)** – 20 пациентов – 1-я степень плотности ядра хрусталика по Буратто, с неоваскулярной формой ВМД (нВМД), AREDS 4 (поздняя стадия).

Дизайн клинической части исследования представлен на Рисунке 6.

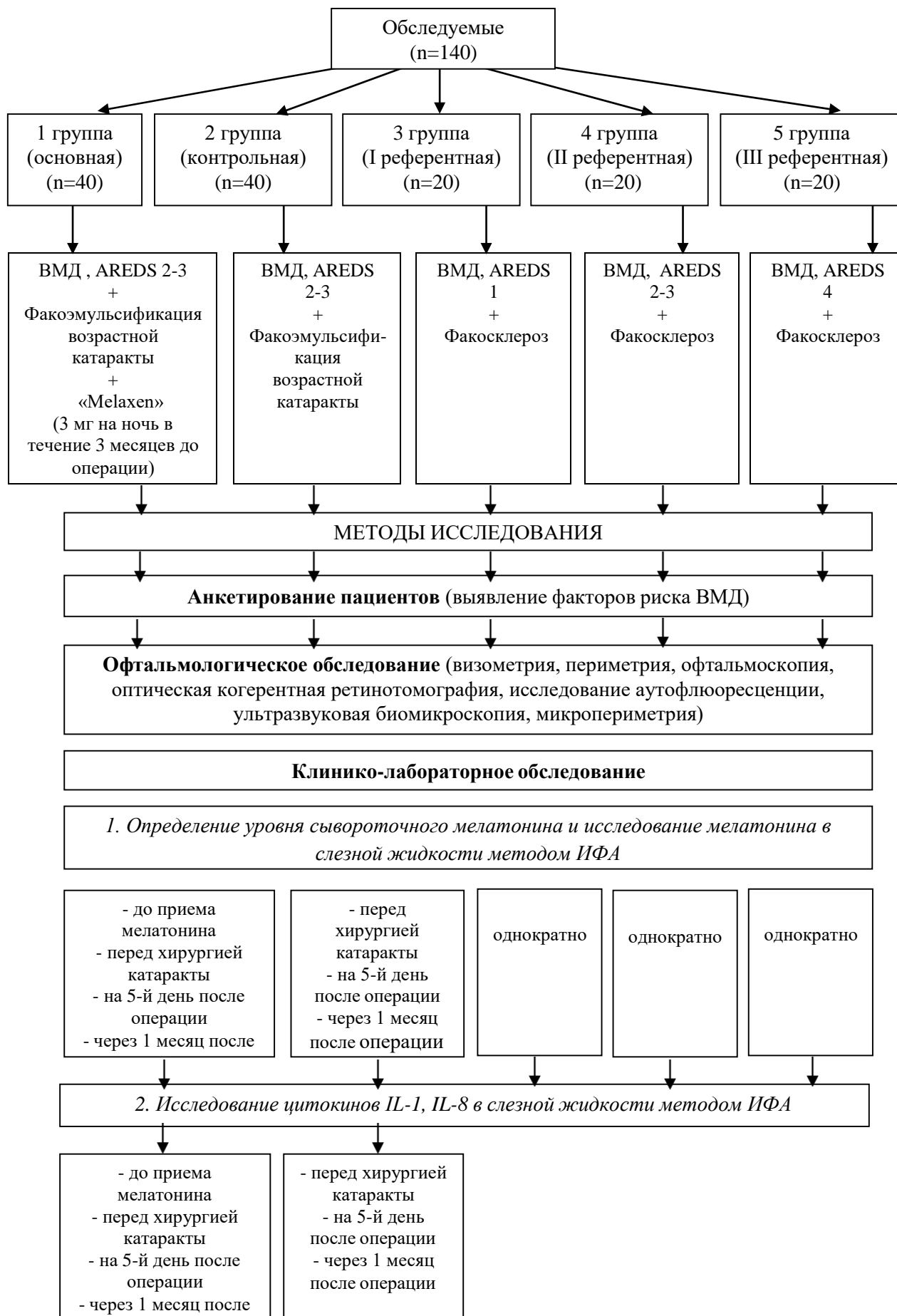


Рисунок 6 – Дизайн клинической части исследования

## 2.4. Методы клинических исследований и техника операции

Пациентам проводили комплексное офтальмологическое обследование, включающее: проверку остроты зрения без коррекции и с коррекцией (визометрия), авторефрактометрию, тонометрию, периметрию, а также фоторегистрацию глазного дна, исследование аутофлуоресценции, оптическую когерентную томографию (ОКТ) заднего отрезка глаза, ОКТ в режиме ангиографии, ультразвуковую биомикроскопию (УБМ) (основной и контрольной группам).

**Визометрия.** Остроту зрения без коррекции и с максимальной очковой коррекцией определяли в стандартных условиях освещенности с использованием рабочего места «Huvitz» HRT -7000 (Корея).

**Тонометрия.** Выполнялась аппланационным методом с помощью тонометра Маклакова (груз весом 10 г) под местной анестезией 1% раствора инкаина. Диаметр отпечатка измеряли линейкой Поляка Б.Л.

**Биомикроскопия.** Выполнялась с помощью щелевой лампы Keeler (Великобритания) для детального изучения структур переднего сегмента глаза. При осмотре оценивали состояние роговицы, глубины передней камеры, радужки и хрусталика. Оценивали прозрачность хрусталика, наличие, локализацию и интенсивность катарактальных помутнений. Для характеристики степени плотности ядра хрусталика применяли классификацию Buratto L. (1999). Биомикроскопию заднего отрезка глаза проводили на щелевой лампе с помощью асферических линз 60 и 90 дпр Volk (США) путем прямого и непрямого фокального освещения сетчатки узкой световой щелью, которую перемещали по главному дну методом «сканирования». Такая методика позволяла получить обратное изображение глазного дна с качественным стереоэффектом.

**Фоторегистрация глазного дна и исследование аутофлуоресценции.** Производили с помощью цифровой ретинальной камеры CX-1, Canon Digital retina camera, MYD\NM (Япония). Для получения данных

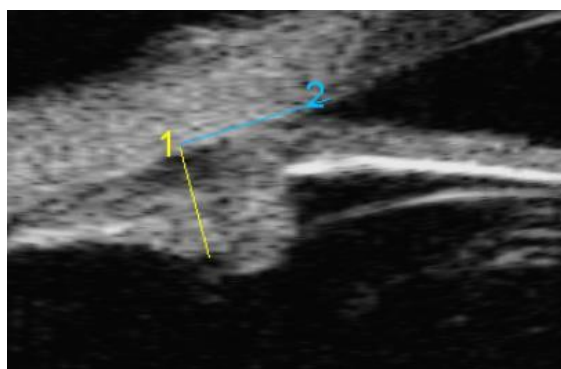
аутофлуоресценции глазного дна на Гейдельбергском ретинальном ангиографе (HRA Spectralis HRA+ОКТ, Германия) проводили запись нескольких (от 9 до 26) снимков с последующим автоматическим усреднением, либо использовали программу «Art», усредняющую несколько изображений в реальном времени во время исследования вплоть до получения снимка удовлетворительного качества.

Аутофлуоресценция (АФ) в коротковолновой части спектра регистрировалась в режиме FA (Fluorescein Angiography BAF) без введения красителя для оценки состояния ретинального пигментного эпителия. Использовали длину волны возбуждающего света 488 нм (голубой), эмиссия >500 нм. Для оценки снимков применяли классификацию паттернов аутофлуоресценции, предложенную Bindewald A. с соавторами (2005). Согласно данной классификации, помимо нормальной аутофлуоресценции выделяют 8 паттернов для выявления признаков ВМД, характерных неэкссудативной форме: минимальные изменения аутофлуоресценции, фокальное усиление аутофлуоресценции, пятнистый, линейный, крапчатый, сетчатый и кружевоподобный паттерны.

**Оптическая когерентная томография (ОКТ).** Для диагностики признаков и стадии ВМД по классификации AREDS (определение толщины центральной зоны сетчатки, объема куба, размеров и локализации друз) использовали оптический когерентный томограф. Диагностику хориоидальной неоваскуляризации осуществляли с помощью ОКТ с ангиографией: система RTVue 100 и RTVue XR OCT Avanti «Optovue» (Avanti System, США); Гейдельбергский ретинальный ангиограф (HRA Spectralis HRA+ОСТ, Германия) в режиме OCT Angiography.

**Ультразвуковая биомикроскопия (УБМ).** Проводилась при помощи ультразвукового сканера Accutome B-scan plus (США). Использовали датчик с частотой генерируемого звука 48 МГц, разрешающей способностью 30 мкм, глубина сканирования 30 мм, для определения толщины базиса цилиарного тела до и после хирургического лечения катаракты. УБМ-

исследования выполняли при комнатном освещении при положении пациента лежа на спине. Под местной анестезией инокаина в конъюнктивальную полость помещали воронку, которую наполняли физиологическим раствором (0,9% раствор хлорида натрия). Затем в нее опускали наконечник и, не касаясь роговицы, удерживали его перпендикулярно к исследуемым структурам иридоцилиарной зоны. Использовали следующие меридианы: 12→6, 3→9, 6→12, 9→3 (в каждом секторе проводили по 5 измерений). За основу принимали максимальную величину измерения (по методике Pavlin С.Ј. с соавторами (1991) и Тахчиди Х.П. с соавторами (2007)). Исследовали толщину базиса цилиарного тела (мм), которую измеряли по перпендикуляру от внутренней поверхности склеры до отростчатой части цилиарного тела в 1500 мкм от склеральной шпоры (Рисунок 7).



1 – перпендикуляр от внутренней поверхности склеры до отростчатой части цилиарного тела (максимальная толщина базиса цилиарного тела);  
2 – расстояние 1500 мкм от склеральной шпоры

Рисунок 7 – Схема измерения максимальной толщины базиса  
цилиарного тела

Морфометрические измерения структур проводили с помощью электронного циркуля на экране монитора. Акустическую плотность (АП) исследуемых структур рассчитывали относительно акустической плотности склеры, принятой за 100%, так как она обладает максимальной рефлексивностью среди всех анатомических образований глазного яблока.



Это позволяет снять субъективность оценки и сопоставить биологическую плотность структуры с плотностью наиболее плотной структуры глаза – склеры. УБМ выполняли пациентам основной группы за 3 месяца до операции (перед приемом мелатонина), перед хирургическим лечением, на 10-14-й день, через 1, 3, 6 месяцев после факэмульсификации с имплантацией ИОЛ, в контрольной группе – перед хирургическим лечением, на 10-14-й день, через 1, 3, 6 месяцев после факэмульсификации с имплантацией ИОЛ.

**Микропериметрия.** Выполнялась на фундус-микропериметре МАІА (CenterVue, Италия) с использованием автоматической пороговой макулярной программы expert 4-2, поле обзора 10°, 37 стимулов. Критерии микропериметрии: средняя яркостная чувствительность (дБ), изменение локализации точки фиксации от фовеолы в пределах 2° (%) (Рисунок 8).

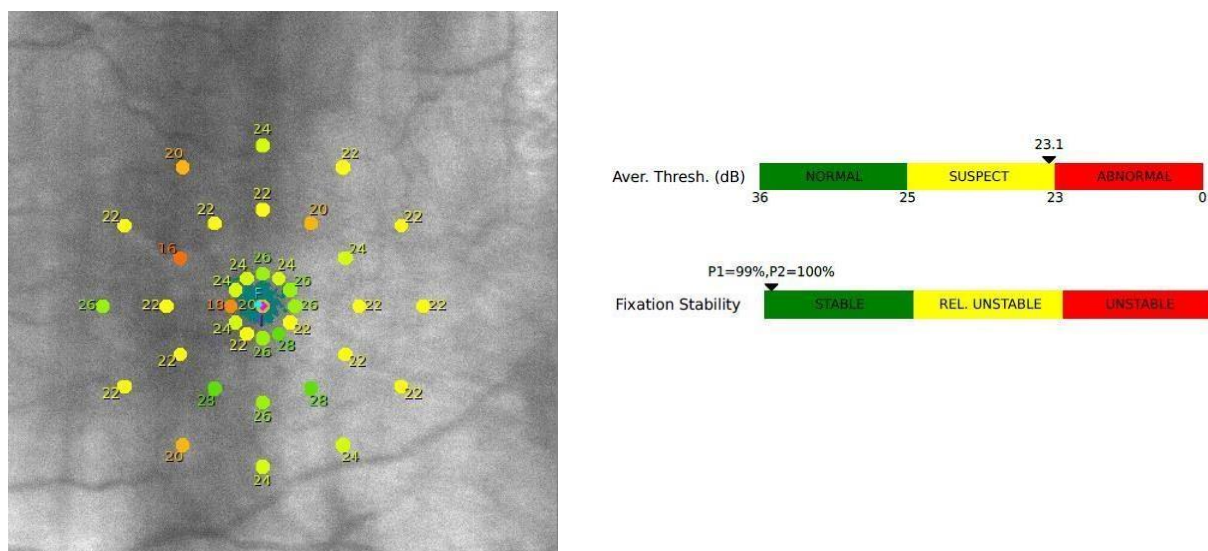


Рисунок 8 – Критерии микропериметрии

Морфофункциональные исследования (фоторегистрация глазного дна, исследование аутофлуоресценции, ОКТ, ОКТ-ангиография, микропериметрия) выполняли у пациентов основной группы за 3 месяца до хирургического лечения катаракты и приема мелатонина, на 3-5-й день, через

1, 3, 6 месяцев после операции. Пациентам из контрольной группы – перед операцией, на 5-й день и через 1, 3, 6 месяцев после операции.

**Техника операции** факоэмульсификации катаракты (ФЭК) с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ).

Всем пациентам основной и контрольной групп выполняли микроинвазивную факоэмульсификацию катаракты с имплантацией Tecnis 1 – Piece IOL (материал: гидрофобный акрил с ультрафиолетовым фильтром) фирмы Johnson & Johnson VISION (США) с использованием микроскопа Carl Zeiss Meditec, OPMI Lumera (Германия) и микрохирургической системы Centurion (Alcon, США). Пациентам проводили предоперационную подготовку по стандартной схеме, принятой в ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России: инстилляцией антибиотика группы фторхинолонов (глазные капли) 3 раза в день до операции, бромфенака в инстилляциях 1 раз, фенилэфрина 2,5% в инстилляциях 3 раза до операции. Операция проходила в условиях сохраненного сознания с использованием атаралгезии в сочетании с регионарной анестезией. При этом осуществляли субтеноновую анестезию лидокаином в количестве 2,0 мл, а также эпibuльбарную анестезию путем инстилляцией в глаз 0,4% раствора инокаина.

Факоэмульсификацию выполняли через самогерметизирующийся роговичный разрез длиной 1,8-2,2 мм. Передний капсулорексис диаметром 5,0-6,0 мм производили после заполнения передней камеры вискоэластиком «Discovisc» (Alcon, США). После гидродиссекции и гидроделинеации ядро хрусталика разделяли на части по методике «phaco-chop» и удаляли. Иригационно-аспирационным способом вымывались остатки кортикальных масс. Продолжительность ультразвукового воздействия в пульсовом режиме во время операции составляла 20-30 сек при мощности ультразвука 30%. Время воздействия абсолютного ультразвука составило 5-7 сек. Расчет оптической силы ИОЛ в процессе диагностического обследования пациентов перед операцией проводили с помощью установки IOL Master Software

Version 4x фирмы «Carl Zeiss» (Германия). Последующие этапы операции включали: имплантацию ИОЛ через роговичный разрез в капсульный мешок посредством инжектора PLATINUM (Johnson & Johnson VISION, США), вымывание из передней камеры вискоэластика ирригационно-аспирационной системой. Операцию заканчивали введением под конъюнктиву 20 мг антибиотика цефалоспоринового ряда в 0,5 мл физиологического раствора и 2 мг (0,5 мл) дексаметазона.

В послеоперационном периоде в течение 1 месяца пациенты продолжали получать в виде инстилляций антибактериальные препараты, кортикостероиды и НПВС. У всех пациентов основной и контрольной групп было характерно неосложненное течение послеоперационного периода со слабо выраженной реакцией на операционную травму (0-1 степени) по классификации Егоровой Э.В. (1992).

## **2.5. Методы лабораторно-иммунологических исследований**

У всех обследованных пациентов было получено информированное согласие на забор биологического материала и его использование для научно-исследовательских работ.

**Содержание мелатонина в слезной жидкости (СЖ) и сыворотке крови (СК).** Определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы: Melatonin ELISA Kit (США). Биоматериал забирали в период с 22.00 до 23.00 (время повышения концентрации мелатонина в организме). Забор слезной жидкости проводили из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку «Eppendorf» в количестве 0,5 мл. Забор крови проводили по стандартной методике: из вены объемом 5,0 мл, после центрифугирования в течение 10 минут при скорости 1000 g, сыворотку помещали в эппендорфы в объеме 3 мл. Полученный биоматериал хранили при температуре -30°C. Перед стандартным проведением ИФА выполняли этап пробоподготовки –

высушивание биоматериала: экстрагирование образцов 500 мкл СЖ, 750 мкл СК с одинаковым объемом 500 мкл и 750 мкл этилацетата. В течение 5 минут пробирки находились на льду в закрытой емкости для того, чтобы слои разделились. Затем образцы подвергали центрифугированию в течение 10 минут при 1000 g при температуре +2-8°C. Органический слой переносили в новую пробирку. Для высушивания образцов использовали условно инертный газ азот (очищенный), находящийся в 5-литровом баллоне под давлением 40 атмосфер. Использование инертного газа азота необходимо для предотвращения окисления биоматериалов. С помощью редуктора газ направляли по 4 каналам в 4 пробирки, и каждый образец высушивали путем барботирования газа через полученный биораствор. Каждую пробу выпаривали под потоком азота в течение 5 минут до образования белого порошка.

**Содержание интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 в слезной жидкости.** Исследование выполняли методом ИФА на тест-системах «Цитокин» (Россия) согласно инструкции производителя. Результаты ИФА регистрировали на вертикальном фотометре «Labsystems Multiskan» (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Полученные результаты концентрации мелатонина выражали в нанogramмах на миллилитр, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 – в пикограммах на миллилитр. Забор биологического материала осуществлялся в ночное время в период с 22.00 до 23.00 ч (время повышения концентрации мелатонина в организме). Лабораторные исследования (забор крови и слезной жидкости на гормон мелатонин и цитокины ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 в слезной жидкости) у основной группы проводили четырехкратно: 1-й визит – за 3 месяца до приема мелатонина, 2-й визит – накануне перед хирургическим лечением катаракты, 3-й визит – на 3-5-й день после операции, 4-й визит – через 1 месяц после операции. В контрольной группе забор биологического материала выполняли трехкратно: перед операцией, на 3-5-й день и через 1 месяц после операции. Забор крови и слезной жидкости на гормон мелатонин в трех референтных группах

проводили однократно. Все результаты клинико-функциональных исследований заносили в сводные таблицы программы Excel пакета Microsoft Office 2010.

## **2.6. Статистическая обработка данных**

Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики, с использованием пакетов прикладных программ STATISTICA 6.1.478 («Stat Soft Inc.», США) и SPSS v.22 (IBM). Хранение полученных результатов исследования и первичную обработку материала проводили в оригинальной базе данных «Excel» (Microsoft).

Оценку данных экспериментальной части проводили посредством изучения средних значений ключевых показателей. Проверку нормальности полученных данных выполняли по критерию Шапиро-Уилка, и с достоверностью  $p < 0,05$  все исследуемые группы показателей принадлежат нормальному распределению, что дало основу для применения параметрических методов: нахождения средней арифметической, стандартного отклонения и определения достоверности отклонений посредством t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования клинической части обрабатывали при помощи ряда статистических критериев. Проверку нормальности данных проводили только по количественным показателям с использованием критерия Шапиро-Уилка. Ввиду того, что все показатели оказались распределены не нормально, в качестве описательных критериев и методов обработки использовали непараметрические измерения и процедуры. Средние значения были оценены по медиане (Me), размах оценен в интервале 25 и 75 квартилей ( $Q_{25}$ -UQ и  $Q_{75}$ -LQ), значимость межгрупповых различий при попарном сравнении осуществляли при помощи U-коэффициента Манна-Уитни. Значимость критериев оценивали на уровне 0,05 и 0,01.

Однородность выборок по набору факторов риска определяли посредством применения критерия Краскела-Уоллиса, с уровнем значимости  $p=0,05$ .

Для определения взаимосвязи между показателями был применен коэффициент корреляции  $\tau$ -Кендалла. Данный выбор был определен рядом причин [144]. Поскольку большое количество измерений проведено в порядковой шкале, что исключает нормальность распределений ввиду дискретности данных такой шкалы, то коэффициент корреляции Пирсона применяться не может. Среди ранговых непараметрических критериев использован как более надежный и интерпретируемый коэффициент корреляции  $\tau$ -Кендалла в качестве ранговой меры корреляции, по сравнению с  $\rho$  Спирмена.

Качественную характеристику силы связи оценивали по шкале Чеддока: 0,1-0,3 – слабая сила связи; 0,3-0,5 – умеренная; 0,5-0,7 – заметная; 0,7-0,9 – высокая; 0,9-0,99 – весьма высокая.

Для показателей, значения которых были определены в балльных шкалах при проведении анкетирования, проверку не проводили, ввиду априорной ненормальности балльных характеристик.

## **Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА НА СОСТОЯНИЕ СЕТЧАТКИ**

### **ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ФОТОТОКСИЧЕСКОЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ**

Целью данной главы явилась оценка результатов экспериментальных исследований по изучению структурной реорганизации, про- и антиапоптотической характеристик клеток сетчатки глаза кроликов. Для достижения цели решались следующие задачи:

- на основании комплексного клинико-морфологического исследования подтвердить создание модели фототоксической, лазер-индуцированной центральной дегенерации сетчатки *in vivo*;

- на основании результатов иммуногистохимических исследований выявить особенности про- и антиапоптотических процессов при центральной дегенерации в экспериментальной модели, оценить антиапоптотическое и противовоспалительное действие мелатонина в отдаленные сроки наблюдения.

#### **3.1. Экспериментально-гистологическая оценка изменений реорганизации цитоархитектоники сетчатки**

Была разработана модель центральной дегенерации сетчатки, основанная на комплексном лазер-индуцированном воздействии и фототоксическом повреждении сетчатки у кроликов породы шиншилла (патент РФ на изобретение № 2727872 от 29.04.2020 г.). Техническим результатом изобретения явилась направленность лазерного и фотоповреждающего локального воздействия только на сетчатку (центральную область), что позволило исключить формирование других патологий глаза (кератопатию, катаракту и т.д.), а также отсутствие

механического воздействия на сетчатку (пилинг), при котором развивается острое посттравматическое воспаление.

Подопытным животным 1-й (опытной) и 2-й (контрольной) групп проводили хирургическое вмешательство в стерильных условиях под операционным микроскопом Opton (Германия). За 10-15 минут перед началом хирургического вмешательства выполняли трехкратные инстилляциии 2,5% раствора фенилэфрина. Операцию выполняли под местной анестезией (инстилляциии в конъюнктивальную полость 0,4% раствора инокаина) и наркозом. Животных вводили в наркоз растворами «Золетил100» (Франция) в дозе 10 мг/кг и Ксилазин (Нидерланды) в дозе 5 мг/кг внутримышечно. Осуществляли прокол склеры иглой калибром 25G на 10 и 2 часах в 4 мм от лимба (проекция периферических отделов сетчатки), затем после извлечения иглы интравитреально вводили лазерный наконечник офтальмологического фотокоагулятора Vitra (Quantel Medical, Франция) твердотельного зеленого лазера с диодной накачкой (длина волны – 532 нм), 15-45 коагулятов наносили в центральной зоне сетчатки (интактной от зоны хирургического вмешательства) до появления слабо-желтого пятна, отступя 1 диаметр диска зрительного нерва от диска зрительного нерва (ДЗН) в заданном режиме: диаметр пятна 150 мкм, мощность 80-100 мВт (в субпороговом режиме), экспозиция – 0,01 сек. Диаметр повреждения – 1 ДЗН, затем эту зону обрабатывали светом с помощью световода с ксеноновой лампой офтальмологической микрохирургической системы Stellaris PC (Bausch + Lomb, Ирландия) 25 Лм в течение 10 минут в режиме максимальной яркости светового потока.

Параметры лазерного воздействия повреждения сетчатки в субпороговом режиме были выбраны с целью вызвать минимальную степень повреждения лазером, запуская при этом хроническое воспаление. Для создания модели нВМД у экспериментальных животных другие исследователи использовали излучение большей мощностью – до 150-300 мВт, длительность экспозиции 0,1-0,2 с, но меньший диаметр пятна до 100



мкм на лазерных установках с длиной волны 488-532 нм [9, 186]. В экспериментальных моделях ксенон применяется для создания фотохимического повреждения сетчатки, тем самым вызывая повреждение фоторецепторного слоя, ретинального пигментного эпителия (РПЭ) и апоптоз [108].

В конце операции накладывали узловые швы рассасывающей нитью полигликолид 7-0 в месте склеральных проколов (Рисунок 9).

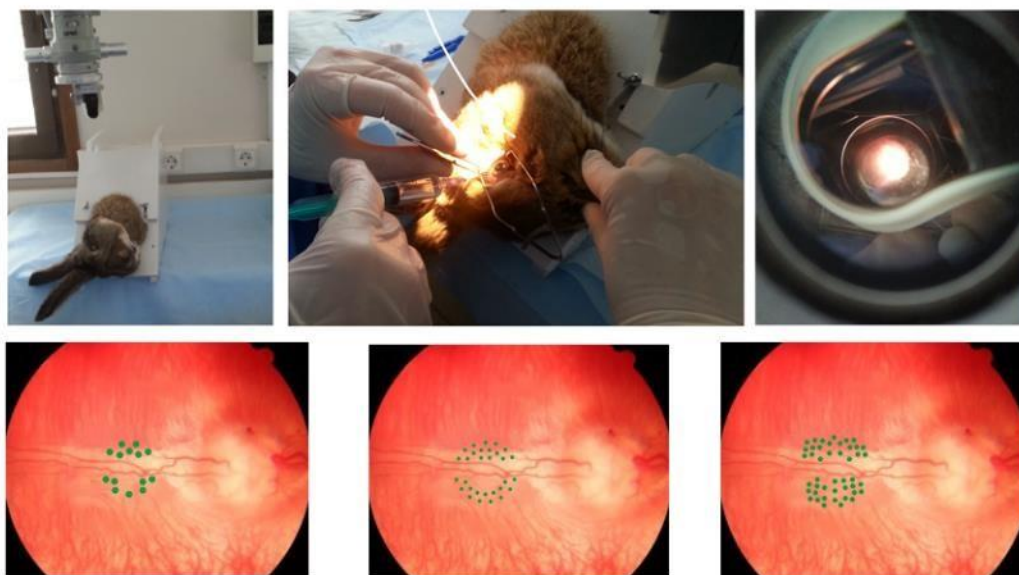


Рисунок 9 – Техника моделирования центральной дегенерации сетчатки с фототоксическим эффектом (пояснения в тексте)

Для предупреждения инфицирования послеоперационной раны после хирургического вмешательства всем кроликам субконъюнктивально вводили раствор антибиотика из группы аминогликозидов и дексаметазона в дозе 3 мг/кг и 0,2 мг/кг соответственно. В последующие 10 дней в конъюнктивальную полость закапывали раствор антибиотика фторхинолонового ряда 0,3% и дексаметазона 0,1% 4 раза в день.

На следующий день после хирургического формирования модели экспериментальным животным опытной группы вводили суспензированный раствор мелатонина в течение 3 месяцев. Выбранная доза перорального введения мелатонина для лабораторных кроликов составляла 0,04 мг/кг/сут,

продолжительность введения – 90 дней. Предложенная дозировка эквивалентна рекомендуемой дозировке мелатонина для людей и рассчитывалась на единицу веса лабораторного животного. Вид введения препарата обосновывался тем, что пероральный метод введения удобен для использования при дальнейшей экстраполяции полученных в данном исследовании результатов в медицинскую практику. Так же важно отметить, что данный метод является неинвазивным, что снижает стрессовую ситуацию, которая неизбежно возникает при контакте человека с животным в эксперименте и может исказить результаты исследования. Таблетку измельчали, необходимую дозу отвешивали на аналитических весах, а затем разводили ее в 3-5 мл питьевой воды для получения суспензии для дальнейшего выпаивания лабораторного животного шприцом без иголки.

В контрольной группе на 1-е сутки после операции у всех экспериментальных животных отмечали умеренно выраженную поверхностную и перикорнеальную инъекцию конъюнктивы, на 10 и 2 часах края раны были адаптированы, узловые швы состоятельные, отмечали умеренную локальную гиперемию конъюнктивы в этих зонах, роговица была прозрачной, передняя камера средней глубины, хрусталик прозрачный, стекловидное тело без изменений, на глазном дне в центральной зоне наблюдалась сглаженность рефлекса и легкая ступенчатость хориоретинального рисунка, явления отека по сравнению с остальными отделами и здоровым глазом.

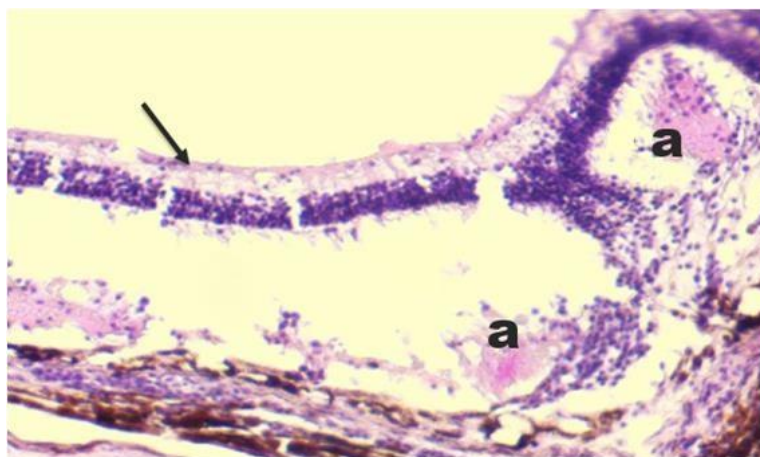
На 7-е сутки после операции сохранялись легкая перикорнеальная инъекция и гиперемия в месте склеральных проколов, передний отрезок без динамики. У шести кроликов из девяти, которым наносили на центральную зону сетчатки максимальное количество коагулятов (от 30 до 45) в данном эксперименте, наблюдали наиболее выраженные экссудативные явления и незначительные ретинальные геморрагии в зоне воздействия. При этом посткоагуляционные зоны на сетчатке не офтальмоскопировались весь период наблюдения.

На 30-е сутки после операции передний отрезок спокойный, оптические среды прозрачные. На глазном дне наблюдалась картина центральной дегенерации сетчатки: отек и ретинальные геморрагии сохранялись у четырех из девяти экспериментальных животных, у них же на 60-е и 90-е сутки отмечались рассасывание ретинальных геморрагий, участки отложения пигмента и зон атрофии в зоне воздействия. У остальных экспериментальных животных сохранялись ступенчатость хориоретинального рисунка, диспигментация в центральной зоне сетчатки.

Экспериментально-гистологические исследования позволили получить модель центральной дегенерации сетчатки, которая укладывалась в морфологическую картину хориоретинальной дистрофии и деструкции с преимущественным поражением хориокапиллярного слоя увеального тракта, стекловидной мембраны Бруха, всех слоев сетчатки вплоть до ее отслойки и ретиношизиса.

В поздние сроки наблюдения (60, 90 суток) обнаружены экссудативно-дистрофические явления с наличием субретинальных включений, формирование которых было связано с ретинальным пигментным эпителием, нельзя исключить отложения аморфного материала между мембраной Бруха и РПЭ. В данных участках сетчатки дегенерирующие пигментные клетки сливались с этим материалом.

На Рисунке 10 видны деструктивно-дегенеративные дистрофические изменения тканевых элементов сетчатки: утолщение внутренней пограничной мембраны, экссудативная отслойка сетчатки с вертикальным ретиношизисом, плотный белковый экссудат с отложениями аморфного материала (а).



а – субретинальный экссудат с аморфным материалом

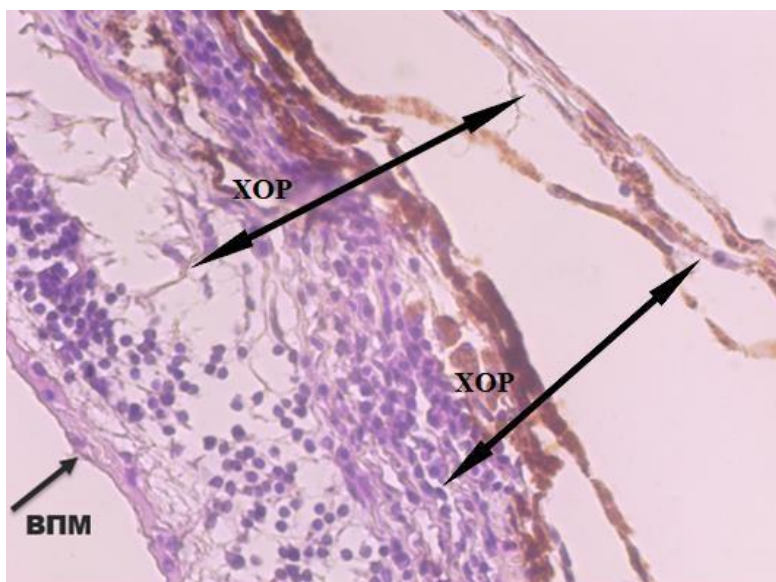
Фиксация: 10% раствор нейтрального формалина.

Окраска: гематоксилин Майера и эозин.

Ув. об. 10; ок. 60

Рисунок 10 – Фрагмент центральной области сетчатки глаза кролика через 60 суток эксперимента (контрольная группа, без применения мелатонина)

На 60-е и особенно на 90-е сутки эксперимента нарастали пигментная дистрофия и деструкция палочек и колбочек. На Рисунке 11 отмечается неоваскулогенез сетчатки, дистрофические изменения внутренней пограничной мембраны (ВПМ) и стертость морфологических границ между сетчаткой и хориоидеей.



ВПМ – внутренняя пограничная мембрана  
 ХОР – хориоидея (с искусственным расслоением)

Фиксация: 10% раствор нейтрального формалина.

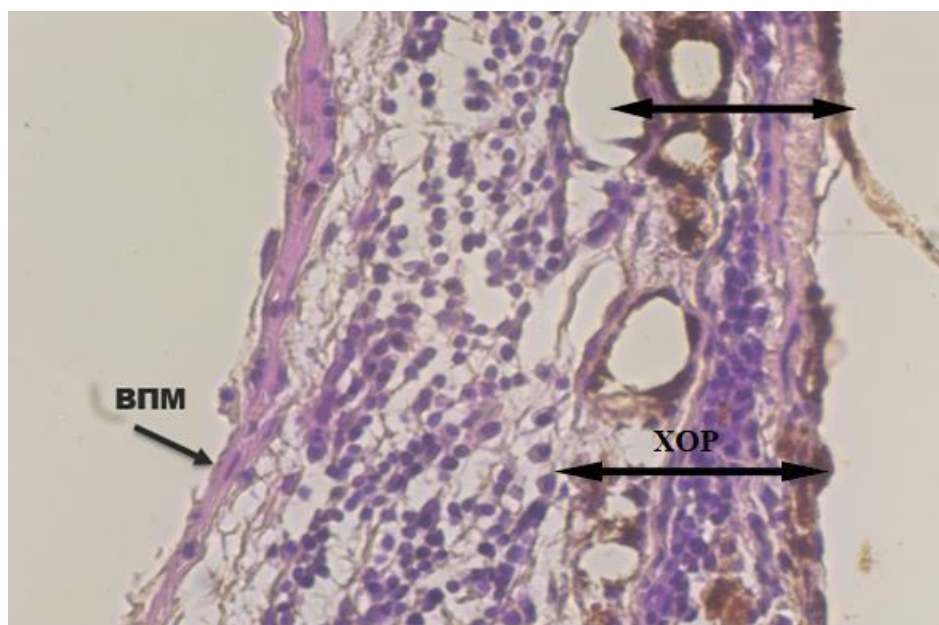
Окраска: гематоксилин Майера и эозин.

Ув. об. 10; ок. 40

Рисунок 11 – Фрагмент центральной области сетчатки глаза кролика через 30 суток эксперимента (контрольная группа, без применения мелатонина)

Имели место набухание, десквамация и смещение во внутренние слои сетчатки клеток пигментного эпителия, исчезновение ядерных и плексиформных слоев. Отмечались гиалиноз и фиброз стенок хориоидальных сосудов (особенно вокруг места выхода зрительного нерва). Здесь же обнаруживались кровоизлияния в хориокапиллярном слое увеального тракта, тромбозы сосудов микроциркуляторного русла, а в последующем (90 суток) очаги рубцевания сетчатки.

На Рисунке 12 отмечается неоваскулогенез на поверхности сетчатки с фиброзом внутренней пограничной мембраны, нарушением стратификации слоев хориоидеи и дистрофией хориокапиллярного слоя.



ВПМ – внутренняя пограничная мембрана  
ХОР – хориодея

Фиксация: 10% раствор нейтрального формалина.  
Окраска: гематоксилин Майера и эозин.  
Ув. об. 10; ок. 60

Рисунок 12 – Фрагмент центральной области сетчатки глаза кролика  
через 90 суток эксперимента (без применения мелатонина)

Экспериментально-гистологические исследования позволили получить фототоксическую управляемую модель центральной дегенерации сетчатки, которая укладывалась в морфологическую картину хориоретинальной дистрофии и деструкции с преимущественным поражением хориокапиллярного слоя увеального тракта. В своей совокупности данные морфологические изменения свидетельствовали о существенной центральной хориоретинальной дистрофии неоваскулярной формы.

### **3.2. Особенности про- и антиапоптотических процессов при фототоксической центральной дегенерации сетчатки в экспериментальной модели**

Послеоперационное течение воспалительной реакции в зоне воздействия в опытной группе наблюдалось аналогично контрольной группе. На 1-е сутки после операции у всех экспериментальных животных отмечались умеренно выраженная поверхностная и перикорнеальная инъекция конъюнктивы, на 10 и 2 часах края раны адаптированы, узловые швы состоятельные, умеренная локальная гиперемия конъюнктивы в этих зонах, роговица прозрачная, передняя камера средней глубины, хрусталик прозрачный, стекловидное тело без изменений, на глазном дне в центральной зоне отмечались сглаженность рефлекса и легкая ступенчатость хориоретинального рисунка, явления отека по сравнению с остальными отделами и здоровым глазом.

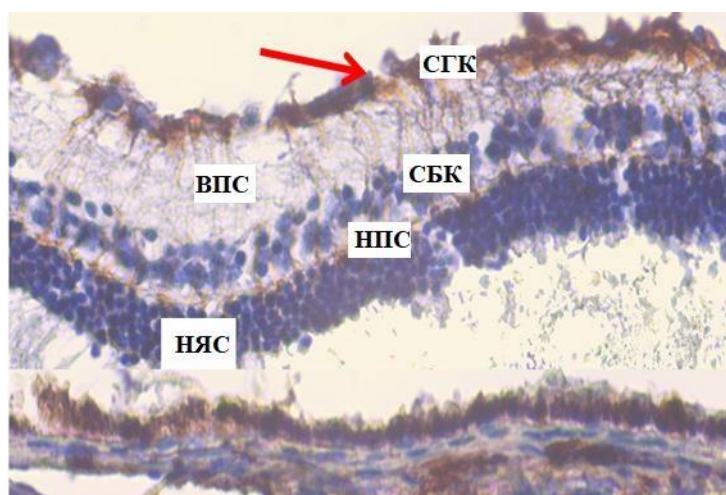
На 7-е сутки после операции сохранялась легкая перикорнеальная инъекция и гиперемия в месте склеральных проколов, передний отрезок без динамики. У пяти кроликов из девяти, которым наносились на центральную зону сетчатки максимальное количество коагулятов (от 30 до 45) в данном эксперименте, наблюдались наиболее выраженные экссудативные явления и незначительные ретинальные геморрагии в зоне воздействия. При этом посткоагуляционные зоны на сетчатке также не офтальмокопировались весь период наблюдения.

На 30-е сутки после операции передний отрезок спокойный, оптические среды прозрачные, на глазном дне картина центрального отека и геморрагий сохранялась у трех из девяти экспериментальных животных, у них же на 60-е и 90-е сутки отмечалось рассасывание ретинальных геморрагий.

На 60- и 90-е сутки у экспериментальных животных наблюдалась картина центральной дегенерации сетчатки: участки в виде отложения



пигмента, появления зон атрофии, ступенчатости хориоретинального рисунка в зоне воздействия. В условиях перорального введения мелатонина к 3-му месяцу эксперимента происходило постепенное восстановление формы пигментных клеток с накоплением гранул меланина в их цитоплазме, локальная сохранность мембраны Бруха и уменьшение в ней дефектов. Тем не менее клетки пигментного слоя были дистрофически изменены, имели место гиалиноз и фиброз ретинальных и хориоидальных сосудов. В слое ганглиозных клеток регистрировалось выраженное иммунопозитивное окрашивание (стрелка) к антиапоптотическому белку bcl-2. Клетки, экспрессирующие bcl-2, обнаруживались в других слоях сетчатки (Рисунок 13).



Стрелкой показаны bcl-2-позитивные ганглионарные клетки  
 НЯС – наружный ядерный слой; НПС – наружный плексиформный слой;  
 СБК – слой биполярных клеток; ВПС – внутренний плексиформный слой;  
 СГК – слой ганглиозных клеток

Фиксация: 10% раствор нейтрального формалина.

Окраска: иммунная гистохимия.

Маркер: моноклональные антитела bcl 2.

Ув. об. 10; ок. 60.

Рисунок 13 – Центральная область сетчатки глаза кролика через 90 суток эксперимента (опытная группа, с применением мелатонина)

Локальную сохранность мембраны Бруха и уменьшение в ней дефектов, равно как и понижение проапоптотической доминанты у клеток



Мюллера (глиоцитов) можно расценить как позитивное влияние экзогенно вводимого мелатонина.

По данным эксперимента прослежена динамика морфометрических показателей сетчатки в опытной и контрольной группах по сравнению с интактными животными (Таблица 3). При моделировании центральной дегенерации значительно снижается протяженность ганглионарного и внутреннего сетчатого слоев.

Это происходит на фоне резкого понижения численности фоторецепторных клеток, особенно на 60-е сутки эксперимента, что может приводить к снижению качества и объема афферентной информации. В опытной группе на фоне введения мелатонина количество фоторецепторных клеток сохранилось больше по сравнению с контрольной, что позволяет предположить реализацию свойства резистентной адаптации гормона мелатонина на нейроны сетчатки. За весь период наблюдения отмечается статистически значимое снижение толщины слоя ганглионарных клеток в обеих группах по сравнению с интактной, при этом в опытной группе этот показатель к окончанию эксперимента достоверно выше, чем в контрольной. Такая же статистически значимая достоверность прослеживается с толщиной слоя нервных волокон.

Следует особо подчеркнуть, что как в ранние, так и в поздние сроки наблюдения не обнаружено достоверных признаков апоптоза фоторецепторов. У интактных животных не регистрировалась экспрессия синтеза про- и антиапоптотических протеинов. У экспериментальных животных контрольной группы зарегистрировано незначительное число p53-позитивных ганглионарных нейронов и мюллеровых глиоцитов с небольшим их увеличением к 90-м суткам. Также к 90-м суткам зафиксировано незначительное bcl-2-позитивное окрашивание мюллеровых глиоцитов. В опытной группе идентифицированы только p53-позитивные ганглионарные клетки, а также bcl-2-позитивные ганглионарные и мюллеровы клетки, увеличивающиеся к 90-м суткам (см. Таблицу 3).

Таблица 3 – Морфометрические показатели сетчатки глаза кроликов в условиях эксперимента (моделирование центральной дегенерации)  $M \pm m$

Показатели	Опытная группа (введение мелатонина)			Контрольная группа (без мелатонина)			Интактная группа
	30-е сутки	60-е сутки	90-е сутки	30-е сутки	60-е сутки	90-е сутки	
Количество фоторецепторных клеток (в условных полях зрения), ед.	118,5±6,6 ***	93,4±3,7 *	97,1±2,9 ***	87,5±6,1 *	74,7±4,4 *	75,6±3,6 *	194,7±12,1
Толщина слоя ганглионарных клеток, мкм	55,1±4,4 ***	49,1±2,1 ***	48,9±3,1 ***	36,8±2,4 *	30,1±2,6 *	27,6±2,1 *	80,9±4,7
Толщина слоя нервных волокон, мкм	161,4±2,9 ***	116,7±4,1 *’ **	133,4±4,1 ***	141,2±5,5 *	101,6±6,5 *	93,1±4,3 *	210,6±6,5
p53-позитивные ганглионарные клетки, ‰	0,04±0,01	-	1,4±0,1 ***	0,11±0,1	2,5±0,2 ***	2,9±0,3 ***	-
bcl-2-позитивные ганглионарные клетки, ‰	1,6±0,4	-	1,8±0,1	-	-	-	-
p53-позитивные мюллеровы клетки, ‰	-	-	-	0,29±0,2	3,1±0,1 ***	4,2±0,4 ***	-
bcl-2-позитивные мюллеровы клетки, ‰	2,9±0,3	2,6±0,2	2,9±0,6	-	-	1,7±0,1	-

*Примечание:* винтовой окуляр-микрометр МОВ 4У (об.40, ок. 10); условные поля зрения: окулярная вставка 0,25 мм<sup>2</sup>;

\* –  $p \leq 0,001$  при сравнении исследуемых групп с интактными кроликами,

\*\* –  $p \leq 0,05$  при сравнении опытной группы с контрольной,

\*\*\* –  $p \leq 0,001$  при сравнении внутри групп, согласно срокам забора анализа.

Применение мелатонина у экспериментальных животных приводило к уменьшению пигментной дистрофии и кровоизлияний, деструкции и понижению апоптозной доминанты и плексиформных слоев сетчатой оболочки. При этом уменьшались признаки деструкции пигментного эпителия и фоторецепторных клеток, выраженность повреждений аксонов ганглионарных нейронов. Наблюдалось понижение апоптотической доминанты ганглионарных и мюллеровых клеток за счет экспрессии синтеза антиапоптотического белка bcl-2.

Тем не менее в отдаленные сроки наблюдения (90-е сутки) имели место гиалиноз и фиброз ретинальных и хориоидальных сосудов.

Ключевые показатели для оценки изменений морфометрических показателей сетчатки глаза кроликов см. в Таблице 3. Согласно полученным данным, количество фоторецепторных клеток подвержено заметному изменению в условиях эксперимента. Среднее значение фоторецепторных клеток в интактной группе (194,7 единиц в условных полях зрения) достоверно выше среднего значения в опытной и контрольной группах. По результатам исследования через 30 суток в контрольной группе (без мелатонина) количество фоторецепторных клеток снижено до значения 87,5 единиц в условных полях зрения с вероятностью, согласно t-критерию Стьюдента  $p < 0,001$ . При введении мелатонина количество фоторецепторных клеток также достоверно ниже (118,5 единиц в условных полях зрения) в сравнении с интактной группой ( $p < 0,001$ ), однако их количество достоверно выше в сравнении с контрольной группой без мелатонина ( $p < 0,05$ ).

На 60-е сутки количество фоторецепторных клеток снижается в обеих группах, причем в контрольной группе снижено до 74,7 единиц в условных полях зрения, в опытной группе при введении мелатонина количество клеток оценивается в 93,4 единиц в условных полях зрения. Однако снижение фоторецепторных клеток достоверно только при введении мелатонина ( $p < 0,01$ ), достоверность снижения между опытной и контрольной группами t-критерием Стьюдента не доказана.

При последующих измерениях тенденция к снижению в контрольной группе замедляется. На 90-е сутки количество фоторецепторных клеток достигает 75,6 единиц в условных полях зрения. При этом в опытной группе количество клеток возросло до 97,1 единиц в условных полях зрения, достоверность различий по t-критерию Стьюдента составляет  $p < 0,001$ .

Толщина слоя ганглионарных клеток в интактной группе составляет  $80,9 \pm 4,7$  мкм, что выше, чем в контрольной и опытной группах с достоверной вероятностью  $p < 0,001$ . На 30-е сутки в контрольной группе (без мелатонина) толщина слоя ганглионарных клеток у подопытных животных составила 36,8 мкм, в опытной группе – 55,1 мкм. При этом различие между данными группами достоверно с вероятностью  $p < 0,001$ . На 60-е сутки толщина слоя ганглионарных клеток в контрольной группе снизилась до 30,1 мкм, в опытной группе – до 49,1 мкм с достоверностью различий между опытной и контрольной группами ( $p < 0,001$ ). На 90-е сутки толщина слоя ганглионарных клеток продолжала снижаться и достигла в контрольной группе 27,6, в опытной группе – 48,9 мкм. Различия между опытной и контрольной группами на 90-е сутки достоверны с вероятностью  $p < 0,001$ .

Также, в опытной и контрольной группах наблюдается снижение толщины слоя нервных волокон. В интактной группе толщина слоя нервных волокон составила 210,6 мкм, в контрольной группе на 30-е сутки – 141,2 мкм, что ниже показателя интактной группы с достоверной вероятностью согласно t-критерию Стьюдента  $p < 0,001$ . Толщина слоя нервных волокон в опытной группе с введением мелатонина на 30-е сутки составила 161,4 мкм, что также достоверно ниже ( $p < 0,001$ ) показателя интактной группы, но при этом достоверно выше уровня контрольной группы ( $p < 0,05$ ). На 60-е сутки толщина слоя нервных волокон в контрольной группе без мелатонина снизилась до значения 101,6 мкм, различия с интактной группой достоверно с вероятностью  $p < 0,001$ . В опытной группе снижение достигло значения 116,7 мкм, что также достоверно ниже интактной группы с вероятностью  $p < 0,001$ . Достоверность различий между опытной и контрольной группами

согласно критерию Стьюдента доказана с вероятностью  $p < 0,05$ . На 90-е сутки в контрольной группе толщина слоя нервных волокон снизилась до значения 93,1 мкм, достоверность в сопоставлении с интактной группой на уровне  $p < 0,001$ . В опытной группе снижение сменилось ростом до 133,4 мкм. Достоверность различий между опытной и контрольной группами согласно критерию Стьюдента доказана с вероятностью  $p < 0,05$ .

Исследованию подвергались ганглионарные и мюллеровы клетки (p53-позитивные и bcl-2-позитивные). В интактной группе данные клетки не обнаружены. В контрольной группе на 30-е сутки среднее значение p53-позитивных ганглионарных клеток составило 0,11‰, в группе, которой вводился мелатонин – 0,04‰. На 60-е сутки эксперимента количество данных клеток в контрольной группе достоверно увеличилось до значения 2,5‰ ( $p < 0,001$ ), в опытной группе (с мелатонином) данные клетки выявлены не были. На 90-е сутки в контрольной группе данные клетки увеличились до значения 2,9‰, без доказанной достоверности, в основной группе среднее значение p53-позитивных ганглионарных клеток составило 1,4‰, достоверность в сравнении с 30-ми сутками эксперимента  $p < 0,001$ .

Только в опытной группе, которой вводился мелатонин, были обнаружены bcl-2-позитивные ганглионарные клетки на 30-е сутки – 1,6‰, на 60-е сутки эксперимента они выявлены не были, на 90-е составили 1,8‰, достоверность изменений не доказана. Напротив, p53-позитивные мюллеровы клетки были обнаружены только в контрольной группе, и на 30-е сутки составляли 0,29‰, на 60-е сутки достоверно, с вероятностью  $p < 0,001$ , увеличились до 3,1‰, на 90-е увеличились до значения 4,2‰ без доказанной достоверности.

В контрольной группе bcl-2-позитивные мюллеровы клетки были обнаружены только на 90-е сутки и составили 1,7‰. В опытной группе, которой вводился мелатонин, на 30-е сутки они составляли 2,9‰, на 60-е сутки снизились до 2,6‰, достоверность при этом не доказана; на 90-е сутки вновь составили значение 2,9‰, также без доказанной достоверности. По

всем показателям определены общие тенденции: интактная группа с высокой вероятностью различается с контрольной и опытной группами. Показатели в опытной группе на 30-е сутки достоверно различаются с контрольной, однако на 60-е сутки, в большинстве случаев, достоверность различий не доказана. На 90-е сутки эксперимента в обеих группах показатели, в целом, снижаются, однако с разной степенью достоверности.

Таким образом, экспериментально-гистологические исследования позволили получить фото- и лазер-индуцированную управляемую, динамическую модель центральной дегенерации сетчатки, которая укладывалась в морфологическую картину хориоретинальной дистрофии и деструкции. Введение экспериментальным животным мелатонина в раннем послеоперационном периоде приводило к уменьшению признаков структурной реорганизации экспериментальной модели центральной дегенерации за счет уменьшения пигментной дистрофии, кровоизлияний и понижению апоптозной доминанты в плексиформных слоях сетчатой оболочки. При этом уменьшались признаки деструкции пигментного эпителия, глиальных клеток и мембраны Бруха, выраженность повреждений аксонов ганглионарных нейронов. В опытной группе выявлено понижение проапоптотической доминанты у мюллеровых глиоцитов, ганглионарных клеток за счет экспрессии синтеза антиапоптотического белка bcl-2. Вышеперечисленные положительные изменения реализованы за счет свойства резистентной адаптации гормона мелатонин на структуры сетчатки, что может иметь существенное значение как основа адаптации к старению сетчатки. Это в свою очередь указывает на важную роль мелатонина в реализации и оптимизации фаз воспаления в субретинальном пространстве. Полученные в результате эксперимента сведения можно рассматривать в патогенетическом аспекте, что позволяет перейти к клинической части исследования.

## **Глава 4. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНСОДЕРЖАЩЕЙ ТЕРАПИИ НА КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ И КАТАРАКТОЙ ДО И ПОСЛЕ ФАКОЭМУЛЬСИФИКАЦИИ**

Целью данной главы был анализ результатов анкетирования для выявления факторов риска развития ВМД, клинико-морфофункциональных, иммунологических характеристик исследуемых групп до и в различные сроки после проведения факоэмульсификации возрастной катаракты.

Для достижения цели исследования проходили в следующих направлениях:

- определение содержание мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с ВМД и катарактой исследуемых групп и групп сравнения, оценка корреляционной связи между мелатонином в биологических средах с факторами риска развития ВМД, а также между мелатонином в сыворотке крови и слезной жидкости;

- определение концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями ВМД исследуемых групп до и в различные сроки после проведения факоэмульсификации;

- определение содержание интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов с ВМД до и после факоэмульсификации катаракты и оценка характера связи между ними и уровнем мелатонина.

#### **4.1. Определение содержания мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой, оценка корреляционной связи между мелатонином в биологических средах с факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации**

Для решения поставленной цели решались следующие задачи:

- на основании клинико-морфофункциональных исследований проведение анализа исходных данных пациентов исследуемых групп;
- характеристика данных анкетирования для определения факторов риска ВМД;
- количественная оценка концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у лиц исследуемых групп;
- распределение качественной характеристики связи между факторами риска развития ВМД и количеством мелатонина, между содержанием мелатонина в сыворотке крови и уровнем мелатонина в слезной жидкости у лиц внутри каждой группы.

##### **4.1.1. Клинико-морфофункциональные характеристики пациентов исследуемых групп**

В **основную** (40 пациентов, 40 глаз) и **контрольную** (40 пациентов, 40 глаз) группы вошли пациенты с ранней и промежуточной стадиями ВМД (AREDS 2, 3) и катарактой, планируемые на факоемульсификацию. За 3 месяца до операции пациенты основной группы принимали мелатонин (3 мг на ночь).

Максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) варьировала от 0,3 до 0,5, плотность ядра хрусталика по Буратто соответствовала I степени (12 глаз, 15%) и II степени (68 глаз, 85%). Согласно классификации AREDS,



пациенты были разделены на две категории: AREDS 2 (ранняя стадия ВМД) и AREDS 3 (промежуточная стадия ВМД) (Таблица 4).

Таблица 4 – Количество обследованных глаз в зависимости от стадии ВМД

Стадии Параметр	AREDS 2		AREDS 3	
	основная группа	контрольная группа	основная группа	контрольная группа
Количество глаз	29	28	11	12
Процент, %	72,5	70	27,5	30

На Рисунке 14 представлены фото глазного дна и ОКТ пациента категории AREDS 2.

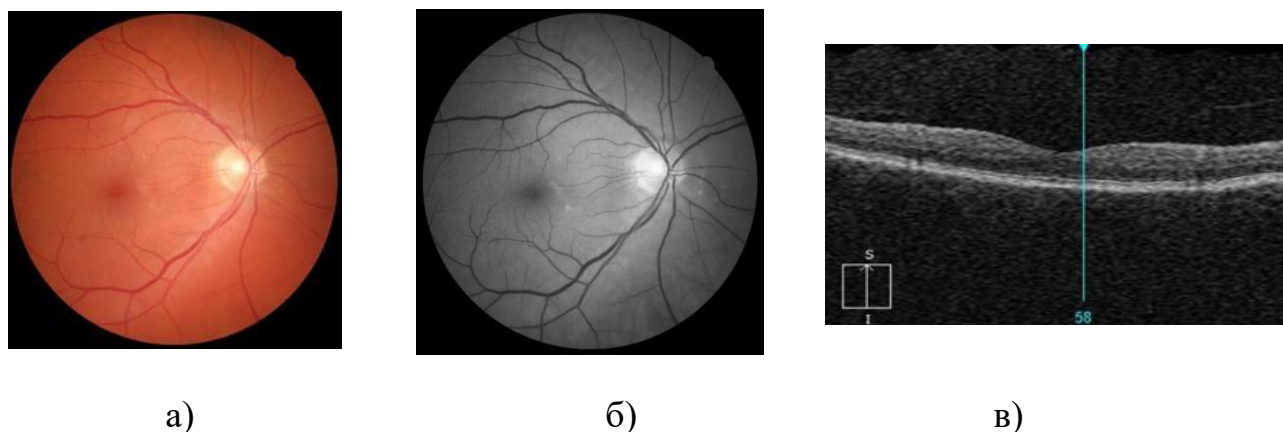


Фото глазного дна на 3-й день после операции ФЭК + ИОЛ (а); снимок аутофлуоресценции (б); ОКТ-снимок (в)

Рисунок 14 – Фотографии глазного дна и снимки ОКТ пациента категории AREDS 2

На Рисунке 15 представлены фото глазного дна и ОКТ пациента категории AREDS 3.

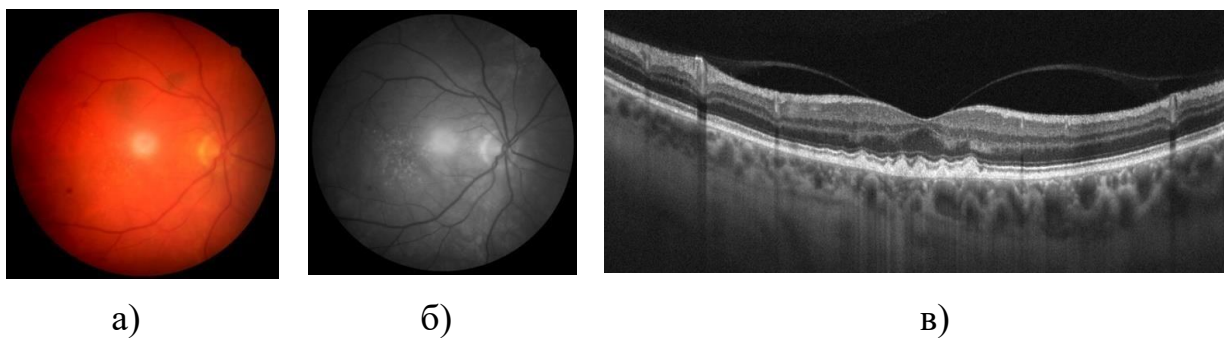


Фото глазного дна (а); снимок аутофлюоресценции (б); ОКТ-снимок (в)

Рисунок 15 – Снимки глазного дна и снимки ОКТ пациента категории AREDS 3

Состояние РПЭ оценивали по исследованию на аутофлюоресценцию (АФ) по классификации паттернов АФ, предложенной Bindewald A. в 2005 г. [59]. Согласно данной классификации, помимо нормальной АФ выделяют 8 паттернов для выявления признаков ВМД, характерных для неэкссудативной формы: минимальные изменения АФ, фокальное усиление АФ, пятнистый, линейный, крапчатый, сетчатый и кружевоподобный.

У пациентов с ранней стадией ВМД (AREDS 2) отмечалась равномерная аутофлюоресценция, паттерн с минимальными изменениями. В случаях промежуточной стадии ВМД (AREDS 3) отмечались изменения (чередование зон гипер- и гипоаутофлюоресценции), свидетельствующие о серьезных повреждениях РПЭ. Для промежуточной стадии ВМД категории AREDS 3 зарегистрированы паттерн с фокальным усилением (Рисунок 16), а также линейный, пятнистый и кружевной паттерны (Рисунки 17-19).

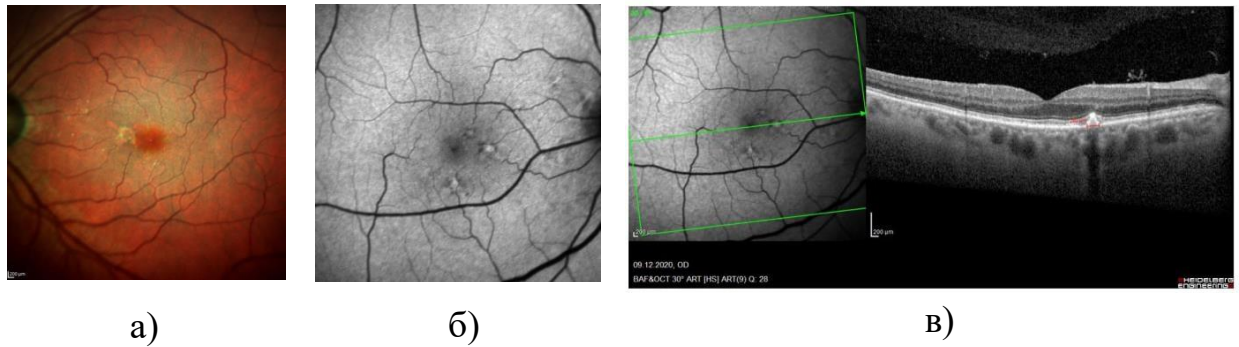


Фото глазного дна (а); АФ-снимок в коротковолновом режиме ВАФ, паттерн с фокальным усилением, показывающий участки гиперфлюоресценции с четкими контурами, соответствующие зонам друз ОКТ-снимка (б); участки элевации РПЭ, твердые друзы среднего и мелкого калибра (в)

Рисунок 16 – Снимки глазного дна (паттерн с фокальным усилением) и результаты ОКТ пациента категории AREDS 3

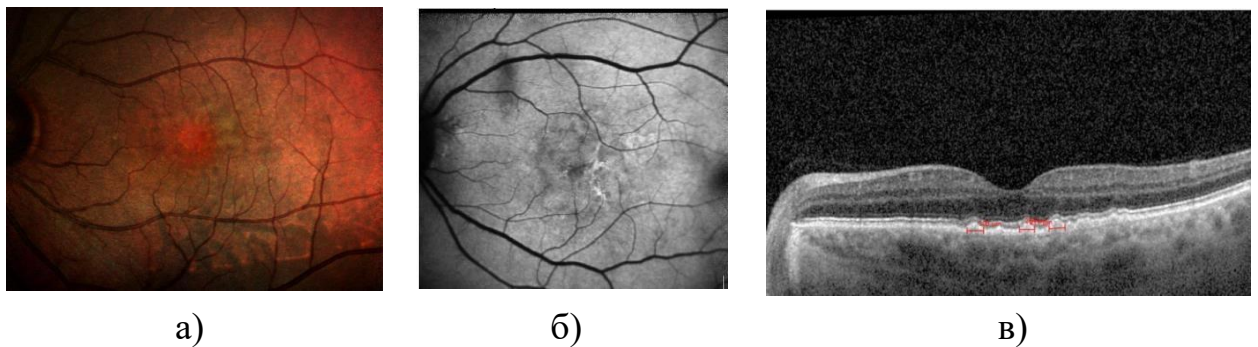


Фото глазного дна (а); АФ-снимок в коротковолновом режиме ВАФ, линейный паттерн, характеризующийся зоной гиперфлюоресценции в виде линий (б); ОКТ-снимок с мягкими друзами среднего калибра (в)

Рисунок 17 – Снимки глазного дна (линейный паттерн) и ОКТ пациента категории AREDS 3

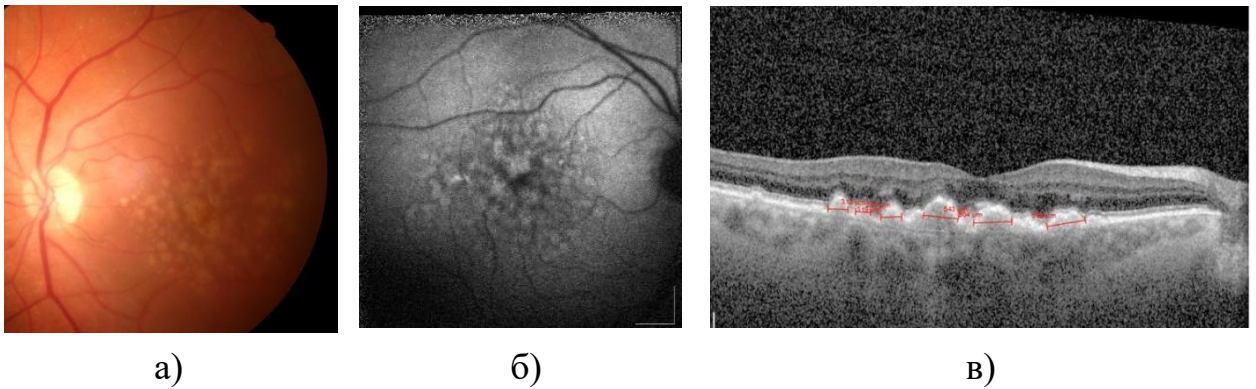


Фото глазного дна (а); АФ-снимок в коротковолновом режиме VAF, пятнистый паттерн, характеризующийся множеством участков гиперфлюоресценции округлой формы разного калибра (б); соответствующие на ОКТ-снимке мягким друзам крупного и среднего калибров (в)

Рисунок 18 – Снимки глазного дна (пятнистый паттерн) и результаты ОКТ пациента категории AREDS 3

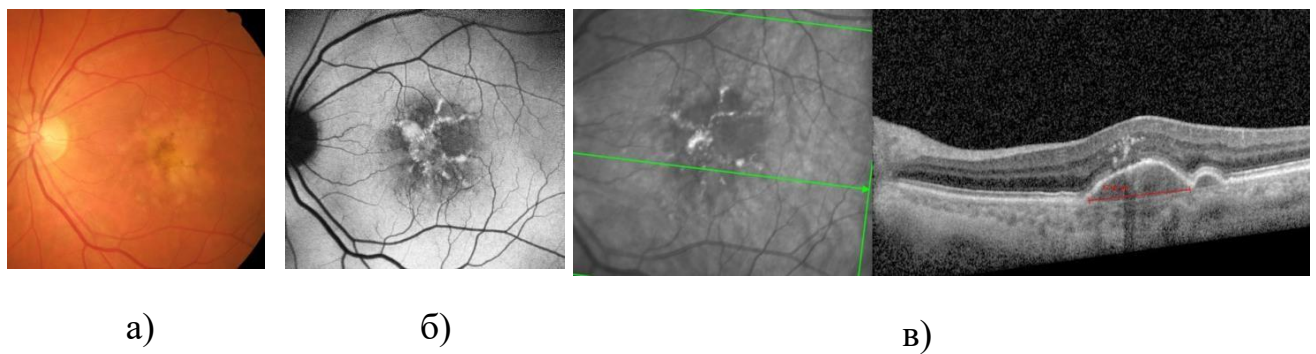


Фото глазного дна (а); АФ-снимок в коротковолновом режиме VAF, кружевной паттерн, характеризующийся множеством участков гиперфлюоресценции в виде множества ветвящихся линейных структур (б); соответствующие на ОКТ-снимке сливным мягким друзам крупного калибра и друзеноидной отслойке РПЭ (в)

Рисунок 19 – Снимки глазного дна (кружевной паттерн) и результаты ОКТ пациента категории AREDS 3

Помимо основной и контрольной групп, были сформированы три группы сравнения.

В 3-ю группу (референтная 1, условно-здоровые, P1) вошли пациенты со следующими критериями: МКОЗ от 0,8 до 1,0, I степень плотности ядра хрусталика по Буратто (факосклероз); по классификации AREDS 1 (отсутствие ВМД), возрастная макулопатия. У этой группы регистрировался нормальный паттерн аутофлуоресценции с однородной фоновой аутофлуоресценцией (Рисунок 20).



Фото глазного дна единичные твердые друзы (а); АФ-снимок в режиме ВАФ: паттерн с минимальными изменениями, незначительные зоны гипо- и гиперфлюоресценции(б)

Рисунок 20 – Снимки глазного дна пациента категории AREDS 1

**4-я группа (референтная 2, P2)** – пациенты с неэкссудативной формой ВМД, не нуждающиеся в хирургическом лечении катаракты: МКОЗ составляла от 0,7 до 0,9; I степень плотности ядра хрусталика по Буратто; по классификации AREDS – ранняя стадия ВМД (AREDS 2).

**5-я группа (референтная 3, P3)** пациенты с неоваскулярной формой ВМД: МКОЗ от 0,1 до 0,3; I степень плотности ядра хрусталика по Буратто; по классификации AREDS – поздняя стадия ВМД (AREDS 4) (Рисунок 21).



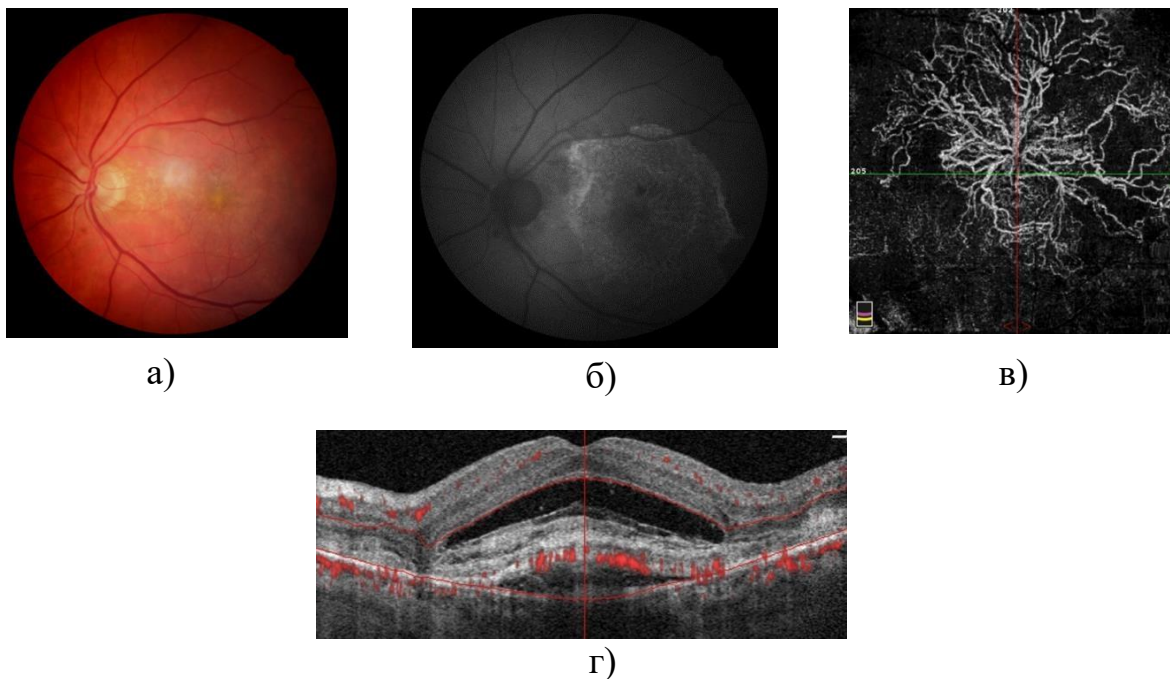


Фото глазного дна (а), АФ-снимок в коротковолновом режиме ВАФ (б); снимок в режиме ОКТ-ангиографии: новообразованные сосуды (в); ОКТ-снимок: фиброваскулярная отслойка РПЭ с наличием субретинальной жидкости и жидкостью под РПЭ (г)

Рисунок 21 – Снимки глазного дна пациента категории AREDS 4

Для проведения клинических исследований сформированы пять групп, различающиеся степенью плотности хрусталика по Буратто и стадиями ВМД по классификации AREDS: основная (с применением мелатонинсодержащей терапии перед фактоэмульсификацией) и контрольная (без применения мелатонина), планируемые на хирургическое лечение катаракты, а также три референтные группы для сравнительного анализа исходной концентрации мелатонина в изучаемых биологических средах.

#### **4.1.2. Характеристика данных анкетирования для определения факторов риска возрастной макулярной дегенерации**

Всем пациентам, вошедшим в анализ настоящей работы, проведено анкетирование с использованием вопросов из скринингового опросника STARS для определения факторов риска развития ВМД. Вопросы включали: возраст, пол, этническую принадлежность (европейская, неевропейская),

цвет радужной оболочки, цвет волос, вредные привычки (курение), индекс массы тела (ИМТ), наличие артериальной гипертензии (АГ). В скрининговый опросник для определения факторов риска развития ВМД дополнительно были включены вопросы о наличии бессонницы и работе в ночные смены в течение жизни. Известно, что содержание мелатонина в организме у лиц, работающих длительное время в ночные смены [180, 192] и страдающих бессонницей, снижено, и это также нужно учитывать при сборе анамнеза. Распределение факторов риска представлено в Таблице 5.

Таблица 5 – Распределение факторов риска развития ВМД у обследуемых лиц, согласно дополненному опроснику STARS

Факторы риска развития ВМД	Основная группа (О)	Контрольная группа (К)	Условно-здоровые (Р1)	Пациенты без кактаракты с ВМД (Р2)	Пациенты с нВМД (Р3)
<b>Возраст</b>					
<65	65%	63%	65%	70%	58%
65-75	35%	37%	35%	30%	42%
<b>Пол (М/Ж)</b>	35%/65%	29%/71%	42%/58%	25%/75%	37%/63%
<b>Расовая принадлежность:</b>					
неевропейская	0%	0%	0%	0%	0%
европейская	100%	100%	100%	100%	100%
<b>Цвет радужной оболочки:</b>					
темный	35%	55%	60%	30%	45%
светлый	65%	45%	40%	70%	55%
<b>Отношение к курению:</b>					
не курят	68%	53%	60%	55%	50%
не курят менее 10 лет	2%	25%	15%	5%	15%
не курят более 10 лет	22%	12%	15%	35%	15%
курят	8%	10%	10%	5%	20%
<b>ИМТ</b>	29±1,01	29,4±0,91	30,3±1,07	30,16±2,2	28,2±1,2
<b>Наличие АГ:</b>					
отсутствует	32%	25%	20%	20%	20%
менее 5 лет	45%	30%	40%	55%	30%
более 5 лет	23%	45%	40%	25%	50%

<b>Наличие бессонницы:</b>					
отсутствие бессонницы					
тревожный сон	0%	5%	15%	20%	10%
выраженная бессонница	88%	83%	75%	70%	75%
	12%	12%	10%	10%	15%
<b>Ночные смены:</b>					
отсутствуют	55%	53%	50%	57%	52%
менее 10 лет	22%	22%	30%	18%	23%
более 10 лет	23%	25%	20%	25%	25%

Проведено сравнение изучаемых показателей факторов риска развития ВМД по результатам анкетирования для опытной, контрольной и референтных групп. Для определения равноценности групп использовался критерий Краскела-Уоллиса (Таблица 6).

Таблица 6 – Определение равноценности групп показателей факторов риска по результатам анкетирования

Показатели	Хи-квадрат	Р-значение
Острота зрения	0,6	0,705
Возраст	0,6	0,455
Курение	1,4	0,231
Бессонница	1,2	0,296
Ночная смена	0,7	0,42
Индекс массы тела	0,2	0,656
Артериальная гипертензия	1,4	0,267
Цвет глаз	0,6	0,471

Проведенный анализ позволил выявить отсутствие различий на уровне значимости  $p < 0,05$  среди всех показателей, что свидетельствует об однородности рассматриваемых групп. Все изучаемые показатели, согласно критерию Краскела-Уоллиса, принадлежат одной совокупности, что говорит о возможности использования сформированных групп в качестве баз исследования. Полученные результаты позволили перейти к дальнейшим этапам данной работы.



#### 4.1.3. Количественная оценка концентрации мелатонина в биологических средах у лиц исследуемых групп

Следующим этапом исследования явилось определение концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов различных групп (Таблицы 7, 8, Рисунки 22, 23).

Таблица 7 – Содержание мелатонина в сыворотке крови у лиц различных групп (нг/мл)

Показатели	Основная группа (О)	Контрольная группа (К)	Условно здоровые (Р1)	Пациенты без катаракты с ВМД (Р2)	Пациенты с нВМД (Р3)
Нижний квартиль (LQ)	0,044	0,019	0,031	0,02	0,019
Медиана (Me)	0,114	0,089*	0,125	0,082*	0,021*
Верхний квартиль (UQ)	0,154	0,142	0,161	0,147	0,024

Примечание: \* достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателей обследуемых групп по сравнению с группой здоровых лиц по U-критерию Манна-Уитни.

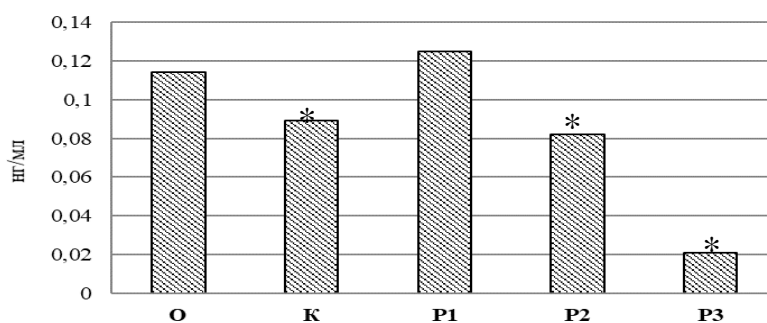


Рисунок 22 – Содержание мелатонина в сыворотке крови у лиц различных групп (\* достоверность различий  $p < 0,05$ )

Как видно из данных Таблицы 7 и Рисунка 22, содержание мелатонина в сыворотке крови достаточно широко колеблется у всех обследованных лиц: от 0,001 до 0,161 нг/мл. Наибольшая медиана значений мелатонина в сыворотке крови отмечена у условно-здоровых людей, а наименьшая – у пациентов с нВМД (Р3). Выявлены достоверные отличия уровня мелатонина

у пациентов без катаракты с ВМД (P2), у пациентов с нВМД (P3) и у контрольной группы (К), по сравнению с аналогичными показателями обследованных здоровых людей и пациентов из основной группы.

Таблица 8 – Содержание мелатонина в слезной жидкости у лиц различных групп (нг/мл)

Показатели	Основная группа (О)	Контрольная группа (К)	Здоровые (P1)	Пациенты без катаракты с ВМД (P2)	Пациенты с нВМД (P3)
Нижний квартиль (LQ)	0,176	0,068	0,166	0,075	0,067
Медиана (Me)	0,324	0,124*	0,301	0,147*	0,07*
Верхний квартиль (UQ)	0,432	0,248	0,477	0,328	0,076

Примечание: \* достоверность различий ( $p < 0,05$ ).

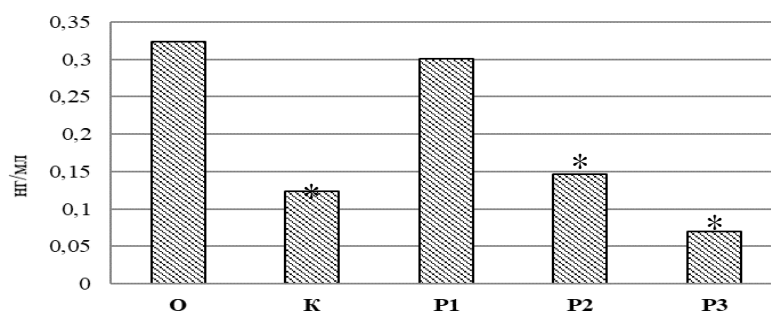


Рисунок 23 – Содержание мелатонина в слезной жидкости у лиц различных групп (\* достоверность различий  $p < 0,05$ )

Согласно данным Таблицы 8 и Рисунка 23, значения медианы мелатонина в слезной жидкости различаются более значительно, чем показатели мелатонина в сыворотке крови. Уровень мелатонина варьирует от минимальных до максимальных значений более чем в 10 раз. Наибольшая медиана выявлена у пациентов основной группы. У пациентов контрольной группы, групп P2 и P3 по U-критерию Манна-Уитни достоверно снижено содержание мелатонина в слезной жидкости по сравнению с аналогичным уровнем в группе условно-здоровых лиц. Установлено достоверное снижение

количества мелатонина в слезной жидкости в группе пациентов нВМД (Р3) по сравнению с его содержанием у обследованных лиц всех других групп.

При сравнении концентрации мелатонина в сыворотке крови пациентов исследуемых групп с группой условно-здоровых лиц были установлены более низкие значения мелатонина у пациентов с нВМД (Р3) на 83,2%, у пациентов без катаракты с ВМД (Р2) – на 34,4%, у пациентов контрольной группы – на 28,8%. Однако у пациентов основной группы, принимавших мелатонин на протяжении 3 месяцев до операции, концентрация мелатонина была практически на одинаковом уровне со значениями условно-здоровых лиц. Аналогичная тенденция наблюдалась и при анализе уровня мелатонина в слезной жидкости. У пациентов с нВМД (Р3) уровень мелатонина был ниже на 76,7%, у пациентов контрольной группы – на 58,8% и у пациентов без катаракты с ВМД (Р2) – на 51,1%, уровень мелатонина пациентов основной группы находился в пределах значений здоровых лиц.

Установлены статистически значимые различия в концентрациях мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости (медианы) у исследуемых групп. При этом максимальная концентрация в сыворотке крови наблюдалась у условно-здоровых лиц, тогда как в слезной жидкости максимальная концентрация выявлена у пациентов основной группы. Во всех изучаемых биосубстратах наименьший уровень мелатонина фиксировался в группе с нВМД (Р3). Употребление экзогенного мелатонина в дозе 3 мг в течение 3 месяцев пациентами основной группы нормализовало уровень мелатонина до значений условно-здоровых лиц, как в сыворотке крови, так и в слезной жидкости.

#### **4.1.4. Определение корреляционной связи между факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации и содержанием мелатонина в исследуемых биологических средах**

Определены показатели, имеющие наибольшее влияние на уровень мелатонина (Таблица 9).

Таблица 9 – Коэффициенты корреляции  $\tau$ -Кендалла между факторами риска и уровнем мелатонина в исследуемых группах

Показатели	Основная группа		Контрольная группа		Условно-здоровые (P1)		Пациенты без катаракты с ВМД (P2)		Пациенты с нВМД (P3)	
	М в СК	М в СЖ	М в СК	М в СЖ	М в СК	М в СЖ	М в СК	М в СЖ	М в СК	М в СЖ
Возраст	-0,47	<b>-0,516</b>	<b>-0,541</b>	-0,492	-0,375	-0,438	-0,391	<b>-0,526</b>	-0,418	-0,349
Наследственность	0,055	-0,041	0,09	0,087	-0,21	-0,222	0,265	0,058	0,262	-0,147
Курение	-0,129	-0,2	-0,167	-0,21	-0,092	-0,018	-0,212	-0,237	-0,472	<b>-0,51</b>
Бессонница	<b>-0,876</b>	<b>-0,504</b>	<b>-0,537</b>	<b>-0,913</b>	<b>-0,657</b>	<b>-0,684</b>	<b>-0,778</b>	<b>-0,804</b>	<b>-0,699</b>	<b>-0,779</b>
ИМТ	-0,467	-0,44	<b>-0,598</b>	-0,496	-0,381	-0,342	-0,495	-0,489	-0,417	-0,442
Артериальная гипертония	-0,464	-0,454	<b>-0,702</b>	<b>-0,624</b>	<b>-0,628</b>	<b>-0,82</b>	<b>-0,672</b>	<b>-0,733</b>	<b>-0,778</b>	<b>-0,815</b>
Цвет глаз	<b>0,543</b>	0,412	0,367	<b>0,688</b>	0,427	<b>0,668</b>	0,411	<b>0,634</b>	0,43	<b>0,522</b>
Ночные смены	-0,446	<b>-0,528</b>	<b>-0,809</b>	<b>-0,691</b>	<b>-0,638</b>	<b>-0,739</b>	<b>-0,538</b>	<b>-0,554</b>	-0,399	-0,334

*Примечание:* М в СК – содержание мелатонина в сыворотке крови, М в СЖ – содержание мелатонина в слезной жидкости, ИМТ – индекс массы тела, **выделены наиболее высокие коэффициенты корреляции ( $r= 0,5-0,9$ ).**

Данные Таблицы 9 показывают, что согласно шкале Чеддока, распределение качественной характеристики связи между факторами риска развития ВМД и количеством мелатонина происходило следующим образом: обратная, заметная сила связи установлена среди таких факторов риска развития ВМД, как возраст, курение, ИМТ. Обратная, высокая сила связи зарегистрирована среди факторов риска: бессонница, наличие артериальной гипертонии, работа в ночные смены в течение жизни. Все показатели имеют достоверность на уровне 0,05.

Для наглядности полученные данные представлены в виде графиков (Рисунки 24, 25).

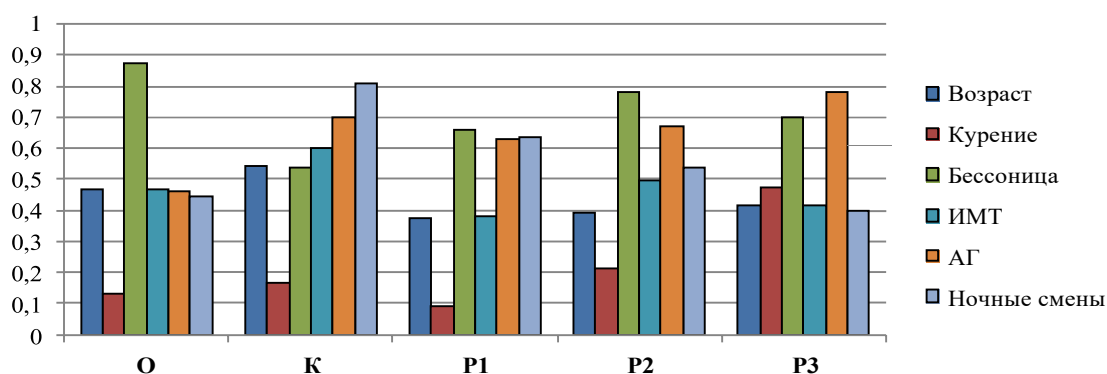


Рисунок 24 – Корреляция  $\tau$ -Кендалла между факторами риска развития ВМД в исследуемых группах и уровнем мелатонина в сыворотке крови (обратная зависимость)

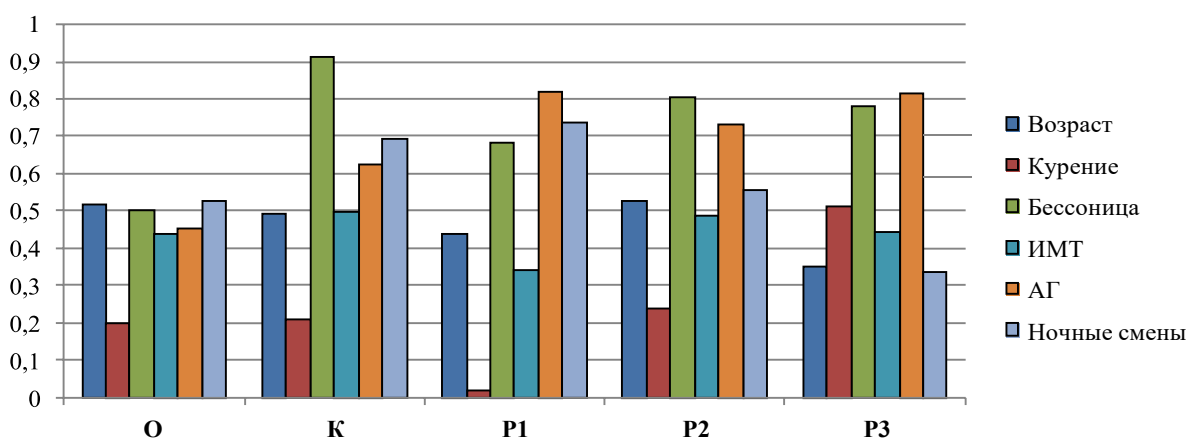


Рисунок 25 – Корреляция  $\tau$ -Кендалла между факторами риска в группах и уровнем мелатонина в слезной жидкости (обратная зависимость)

Наиболее высокие коэффициенты прямой корреляционной связи ( $r = 0,5-0,7$  – заметная сила связи,  $r = 0,7-0,9$  – высокая,  $r = 0,9-0,99$  – весьма высокая) установлены для таких факторов, как возраст, артериальная гипертония, ИМТ, бессонница, в некоторых группах – курение, работа в ночные смены. Выявлено, что по показателям: работа в ночные смены более 10 лет, курение и повышенный ИМТ содержание мелатонина в сыворотке крови у этих пациентов были значительно ниже по сравнению с показателями внутри каждой группы, а в слезной жидкости уровень мелатонина был ниже в несколько раз.

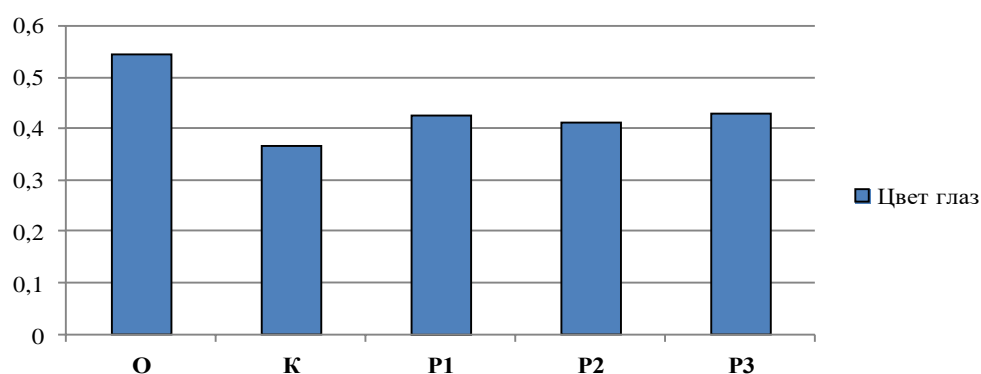


Рисунок 26 – Корреляция  $\tau$ -Кендалла между факторами риска в группах и уровнем мелатонина в сыворотке крови (прямая зависимость)

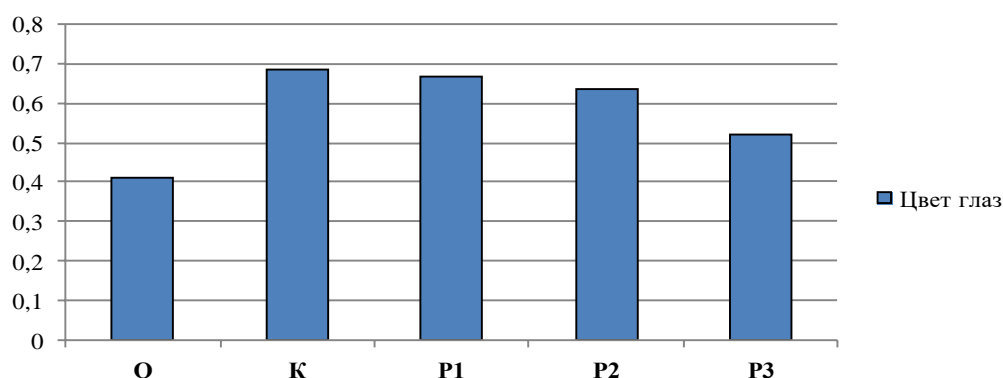


Рисунок 27 – Корреляция  $\tau$ -Кендалла между факторами риска в группах и уровнем мелатонина в слезной жидкости (прямая зависимость)

Как видно из Рисунков 26 и 27, прямая связь ( $r = 0,5-0,7$  – заметная сила связи) установлена между фактором риска цвет радужной оболочки и уровнем мелатонина. Чем выраженнее пигментация радужной оболочки, тем выше уровень мелатонина в исследуемом биологическом материале, тогда как у светлоглазых пациентов с ВМД фиксировались значительно меньшие концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости. Значения мелатонина в сыворотке крови у пациентов с факторами риска составили от 0,02 до 0,051 нг/мл, у пациентов без факторов риска значения варьировались от 0,062 до 0,071 нг/мл. Было установлено, что пациенты в возрастном интервале 64-75 лет, с индексом массы тела  $>30$  (ожирение), артериальной гипертонией, светлым цветом глаз, наличием бессонницы и ночных смен имели более низкие значения мелатонина в сыворотке крови на 19, 34, 58, 46, 68 и 17% ( $p < 0,05$ ) соответственно, по сравнению с пациентами в возрасте младше 65 лет, с индексом массы тела 18,5-25 (норма), без артериальной гипертонии, с темным цветом глаз, тревожным сном и отсутствием ночных смен.

Аналогичная динамика наблюдалась при изучении уровня мелатонина в слезной жидкости. Отмечалось статистически значимое снижение уровня мелатонина у пациентов с факторами риска относительно пациентов без них на 39, 70, 76, 61, 72 и 39% соответственно ( $p < 0,05$ ). Значения мелатонина в слезной жидкости у пациентов с факторами риска составили от 0,073 до 0,131 нг/мл, у пациентов без факторов риска значения варьировались от 0,189 до 0,311 нг/мл.

Изучен характер связи между содержанием мелатонина в сыворотке крови и его уровнем в слезной жидкости у лиц в каждой группе. Для этого использован коэффициент корреляции  $\tau$ -Кендалла (Таблица 10).

Таблица 10 – Коэффициенты корреляции  $\tau$ -Кендалла между содержанием мелатонина в сыворотке крови и уровнем мелатонина в слезной жидкости у лиц внутри каждой группы

Показатели	Мелатонин в сыворотке крови				
	основная группа (О)	контрольная группа (К)	условно-здоровые (Р1)	пациенты без катаракты с ВМД (Р2)	пациенты с нВМД (Р3)
Мелатонин в слезной жидкости	0,429	0,301	0,522	0,398	0,364

Согласно данным Таблицы 10, наибольшая корреляционная связь между содержанием мелатонина в сыворотке крови и в слезной жидкости выявлена у условно-здоровых лиц  $r = 0,522$  (по шкале Чеддока заметная сила связи  $r = 0,5-0,7$ ). Достаточно высокая аналогичная связь отмечена у пациентов основной группы  $r = 0,429$  (по шкале Чеддока умеренная сила связи  $r = 0,3-0,5$ ).

Таким образом, сформированные пять групп, принадлежащие одной совокупности, позволили провести сравнительный анализ исходной концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости. Установлены статистически значимые различия в концентрациях мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у исследуемых групп, при этом максимальная концентрация в сыворотке крови наблюдалась у условно-здоровых лиц, тогда как в слезной жидкости максимальная концентрация выявлена у пациентов основной группы, принимавших мелатонин-содержащий препарат до факоэмульсификации катаракты, минимальная концентрация как в сыворотке крови, так и в слезной жидкости зарегистрирована у пациентов с нВМД. В скрининговый опросник для определения факторов риска развития ВМД дополнительно включены вопросы о наличии бессонницы и работе в ночные смены в течение жизни. Обратная корреляционная связь установлена среди факторов риска развития ВМД: возраст, курение, бессонница, ИМТ, наличие артериальной



гипертонии, работа в ночные смены в течение жизни более 10 лет; прямая связь обнаружена у фактора риска цвет радужной оболочки. Чем выраженнее пигментация радужной оболочки, тем выше уровень мелатонина в исследуемом биологическом материале. Наибольшая корреляционная связь между концентрациями мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости выявлена у группы условно-здоровых лиц и у пациентов основной группы.

#### **4.2. Клинико-лабораторные исследования содержания мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации в различные сроки после проведения факоемульсификации**

Полученные данные анкетирования, результаты клинико-лабораторных исследований, анализа исходных характеристик пациентов исследуемых групп и групп сравнения позволили приступить к следующему этапу клинической части работы: исследованию концентраций мелатонина сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с катарактой, с начальной и промежуточной стадиями ВМД в различные сроки после проведения факоемульсификации катаракты у пациентов контрольной и основной групп.

Забор биологического материала выполняли в ночное время в период с 22.00 до 23.00 (время повышения концентрации мелатонина в организме) в следующие сроки: в основной группе: 1-й визит – за 3 месяца до приема мелатонинсодержащего препарата; 2-й визит – накануне перед операцией после приема мелатонина в течение 3 месяцев, 3-й визит – на 3-5-й день после операции; 4-й визит – через 1 месяц после операции; в контрольной группе: 1-й визит – накануне перед операцией; 2-й визит – на 3-5-й день после операции; 3-й визит – через 1 месяц после операции.

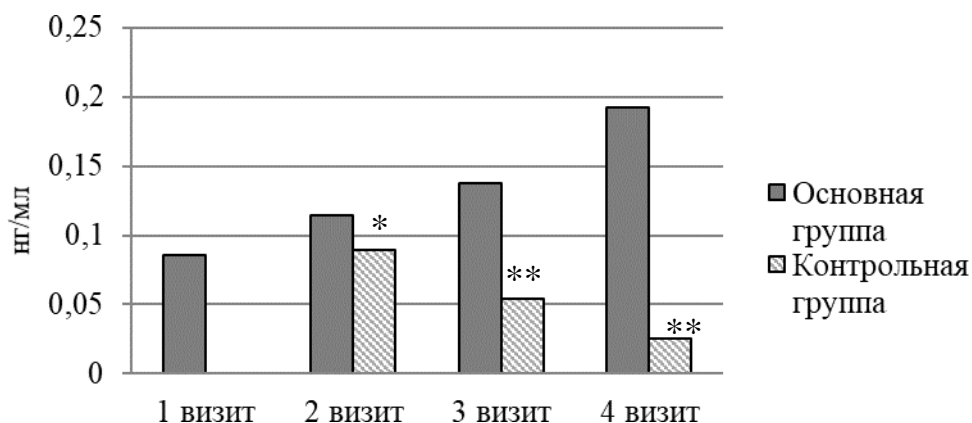
Полученные данные представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Динамика содержания мелатонина (нг/мл) в сыворотке крови у лиц основной и контрольной групп

Показатель	Основная группа				Контрольная группа		
	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	1-й визит	2-й визит	3-й визит
Нижний квартиль (LQ)	0,017	0,044	0,069	0,081	0,019	0,015	0,011
Медиана (Me)	0,086	0,114	0,138	0,192	0,089*	0,054**	0,025**
Верхний квартиль (UQ)	0,139	0,154	0,197	0,226	0,142	0,081	0,034

*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп;  
 \*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной: (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;  
 \*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (4-й визит) и контрольной (3-й визит) групп.

Для наглядности полученные данные представлены на Рисунке 28.



*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп;  
 \*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;  
 \*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (4-й визит) и контрольной (3-й визит) групп.

Рисунок 28 – Динамика содержания мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной и контрольной групп

Как видно из данных Таблицы 11, концентрация мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной группы (до приема мелатонина – 1-й визит) и контрольной (1-й визит) группы статистически значимо не различалась и имела примерно одинаковый исходный уровень. Установлено, что непосредственно перед операцией уровень мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной группы после приема мелатонина в течение 3 месяцев (2-й визит) статистически значимо выше, чем в контрольной (1-й визит) на 22% ( $p < 0,05$ ). На 3-5-й день после операции показатели мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной группы (3-й визит) достоверно выше на 61% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой (2-й визит). Через 1 месяц после операции уровень мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной группы (4-й визит) статистически значимо выше почти в 4 раза (на 87%) уровня мелатонина в сыворотке крови пациентов контрольной группы (3-й визит) ( $p < 0,01$ ).

Содержание мелатонина в слезной жидкости у обследуемых пациентов приведено в Таблице 12.

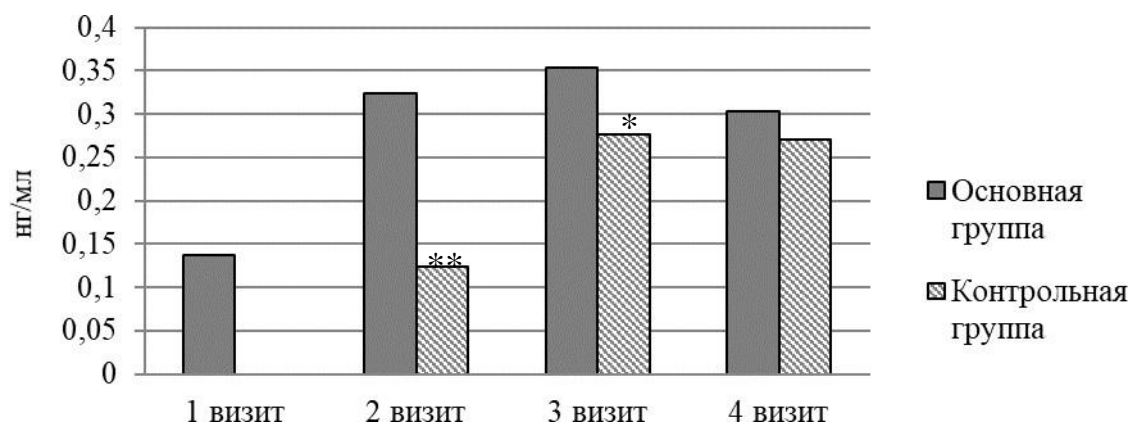
Таблица 12 – Динамика содержания мелатонина (нг/мл) в слезной жидкости у лиц основной и контрольной групп

Показатель	Основная группа				Контрольная группа		
	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	1-й визит	2-й визит	3-й визит
Нижний квартиль (LQ)	0,099	0,214	0,239	0,198	0,077	0,134	0,125
Медиана (Me)	0,137	0,324	0,353	0,303	0,124**	0,277*	0,271
Верхний квартиль (UQ)	0,208	0,412	0,443	0,419	0,171	0,345	0,337

*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;

\*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп.

Для наглядности данные представлены на Рисунке 29.



*Примечание* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (3–й визит) и контрольной (2-й визит) групп;

\*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп.

Рисунок 29 – Динамика содержания мелатонина в слезной жидкости у лиц основной и контрольной групп

Как видно из Таблицы 12 и Рисунка 29, концентрация мелатонина в слезной жидкости у пациентов основной группы (до приема мелатонина – 1-й визит) и контрольной (1-й визит) групп не имеют статистически значимых различий и имеют примерно одинаковый исходный уровень. Перед операцией уровень мелатонина в слезной жидкости основной группы пациентов после приема экзогенного мелатонина в течение 3 месяцев (2-й визит) статистически значимо выше в 2,5 раза аналогичного показателя у контрольной группы (1-й визит) ( $p < 0,01$ ). На 3-5-й день после операции уровень мелатонина в слезной жидкости контрольной группы (2-й визит) увеличился, однако все равно достоверно ниже на 21,5%, чем уровень мелатонина в основной группе (3-й визит) ( $p < 0,05$ ). Через 1 месяц после операции статистически значимых различий в группах не выявлено.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при приеме экзогенного мелатонина (3 мг на ночь в течение 3 месяцев перед операцией) у пациентов основной группы концентрация мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости были достоверно выше весь период наблюдения, по

сравнению с пациентами контрольной группы. При этом показатели концентрации мелатонина в слезной жидкости были значительно выше, по сравнению с аналогичными показателями в сыворотке крови.

### **4.3. Клинико-лабораторные исследования интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ и ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки после проведения факоэмульсификации, корреляционный анализ между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$ и уровнем мелатонина в слезной жидкости**

Для решения поставленной задачи исследование проводилось по следующим направлениям:

- лабораторные исследования интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями ВМД до и в различные сроки после проведения факоэмульсификации;

- корреляционный анализ характера связи между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  и уровнем мелатонина в слезной жидкости.

#### **4.3.1. Лабораторные исследования интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ и ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки проведения факоэмульсификации катаракты**

Забор слезной жидкости для определения интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 и уровня мелатонина проводили в следующие сроки. В основной группе: 1-й визит – за 3 месяца до приема мелатонина; 2-й визит – накануне перед операцией после приема мелатонина в течение 3 месяцев, 3-й визит – на 3-5-й день после операции; 4-й визит – через 1 месяц после операции; в контрольной группе: 1-й визит – накануне перед операцией; 2-й визит – на

3-5-й день после операции; 3-й визит – через 1 месяц после операции. В результате проведенных исследований были получены данные динамики уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 в слезной жидкости до и после хирургии катаракты у пациентов обследуемых групп (Таблицы 13, 14, Рисунки 30, 31).

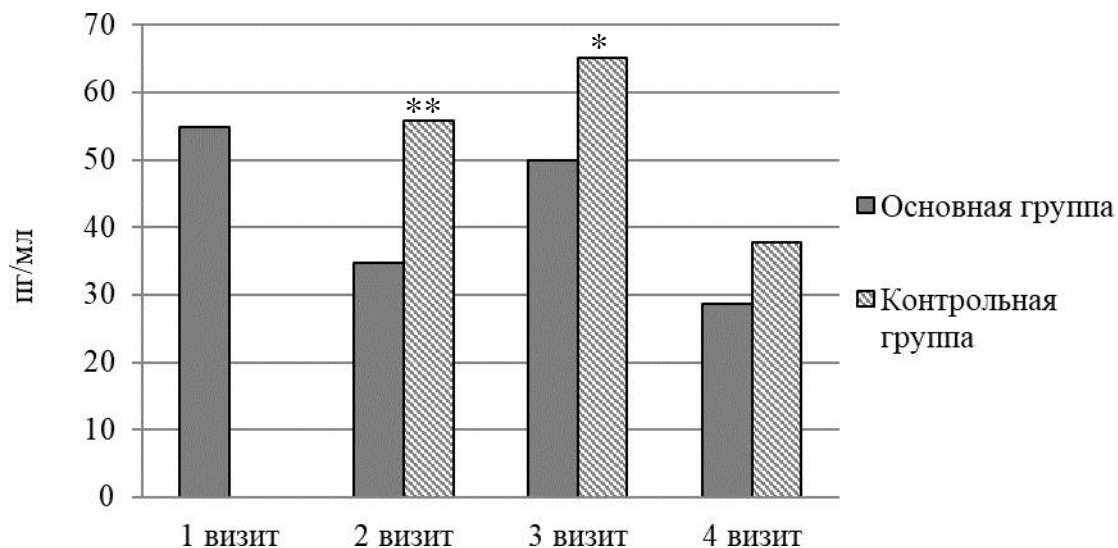
Таблица 13 – Динамика содержания ИЛ-8 (пг/мл) в слезной жидкости у пациентов основной и контрольной групп

Показатель	Основная группа				Контрольная группа		
	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	1-й визит	2-й визит	3-й визит
Нижний квартиль (LQ)	34,6	12,3	29,4	9,6	32,8	33,5	13,7
Медиана (Me)	54,9	34,7	49,9	28,7	55,9**	65,2*	37,8
Верхний квартиль (UQ)	89,7	67,1	88,8	52,5	90,2	96,3	63,4

*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов – основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;

\*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп.

Для наглядности данные представлены на Рисунке 30.



*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;  
 \*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп

Рисунок 30 – Динамика содержания ИЛ-8 в слезной жидкости у пациентов основной и контрольной групп

В результате проведенных исследований было показано (см. Таблицу 13 и Рисунок 30), что при первом визите концентрация ИЛ-8 в СЖ у пациентов в обеих группах статистически не различалась. Непосредственно перед операцией содержание провоспалительного цитокина ИЛ-8 в контрольной группе (1-й визит) статистически значимо выше аналогичного показателя основной группы (2-й визит) более чем на 38% ( $p < 0,01$ ).

На 3-5-й день после операции концентрация ИЛ-8 в обеих группах повысилась, однако его уровень в контрольной группе (2-й визит) статистически значимо выше на 23,4% ( $p < 0,05$ ).

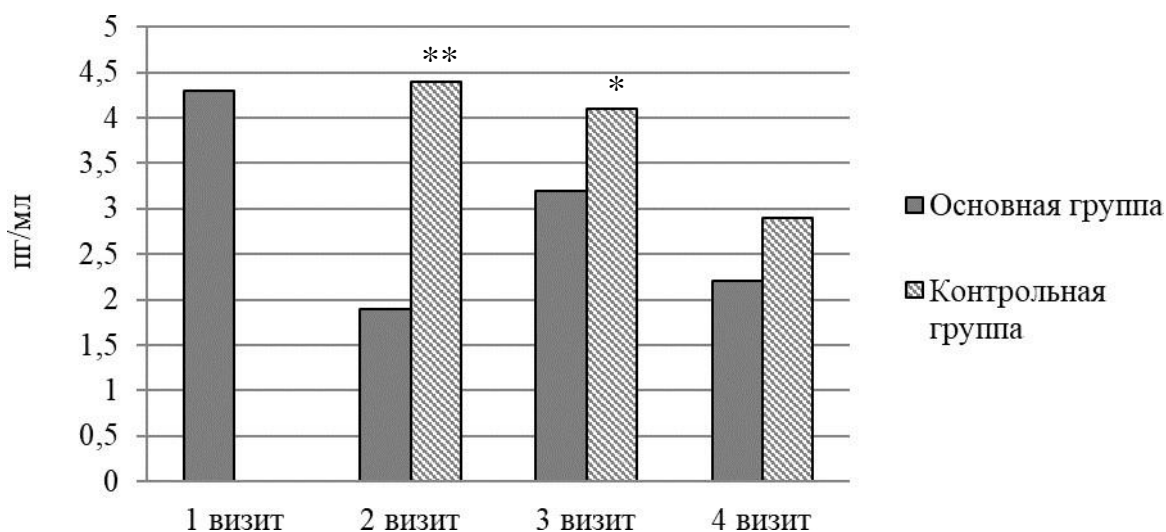
Через 1 месяц после операции содержание ИЛ-8 у пациентов в обеих группах статистически значимо не различалось.

Таблица 14 – Динамика содержания ИЛ-1 $\beta$  (пг/мл) в слезной жидкости у лиц различных групп

Показатель	Основная группа				Контрольная группа		
	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	1-й визит	2-й визит	3-й визит
Нижний квартиль (LQ)	2,3	0,8	1,1	1	2,6	2,2	0,7
Медиана (Me)	4,3	1,9	3,2	2,2	4,4**	4,1*	2,9
Верхний квартиль (UQ)	6,2	3,4	5,9	4,8	7,3	7	5,6

*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 (U-критерий Манна-Уитни) у пациентов основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп;  
\*\* – достоверность различий на уровне 0,01 у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп

Для наглядности данные представлены на Рисунке 31.



*Примечание:* \* – достоверность различий на уровне 0,05 у пациентов основной (3-й визит) и контрольной (2-й визит) групп  
\*\* – достоверность различий на уровне 0,01; у пациентов основной (2-й визит) и контрольной (1-й визит) групп

Рисунок 31 – Динамика содержания ИЛ-1 $\beta$  (пг/мл) в слезной жидкости у лиц различных групп



В результате проведенных исследований (см. Таблицу 14 и Рисунок 31) было установлено, что при первом посещении концентрация ИЛ-1 $\beta$  в СЖ у пациентов обеих групп статистически не различалась.

Содержание ИЛ-1 $\beta$  у пациентов в контрольной группе (1-й визит) статистически значимо выше уровня в основной группе после приема мелатонина в течение 3 месяцев (2-й визит) на 56,8% ( $p < 0,01$ ).

На 3-5-й день после операции уровень ИЛ-1 $\beta$  у пациентов в основной группы повысился, однако статистически значимо ниже, чем у пациентов в контрольной группе (2-й визит) – на 22% ( $p < 0,05$ ).

Через 1 месяц после операции в содержании ИЛ-1 $\beta$  у пациентов обеих групп статистически значимых различий не выявлено.

Проведенные исследования показали, что непосредственно перед операцией содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в контрольной группе статистически значимо выше аналогичных показателей у пациентов основной группы на фоне приема экзогенного мелатонина, в раннем послеоперационном периоде эти показатели в обеих группах повысились, но были статистически значимо выше в контрольной группе.

#### **4.3.2. Корреляционный анализ характера связи между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$ и уровнем мелатонина в слезной жидкости**

Обобщая полученные данные лабораторных исследований уровня мелатонина в слезной жидкости и провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  был проведен их корреляционный анализ. Данные представлены в Таблицах 15 и 16.

Таблица 15 – Корреляционная зависимость уровня мелатонина и интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов в основной группе

Показатели	N	$\tau$ -Кендалла	p-level
Мелатонин & ИЛ-8 (1-й визит)	40	-0,54	0,031
Мелатонин & ИЛ- 1 $\beta$ (1-й визит)	40	-0,41	0,026
Мелатонин & ИЛ-8 (2-й визит)	40	-0,57	0,034
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (2-й визит)	40	-0,52	0,029
Мелатонин & ИЛ-8 (3-й визит)	40	0,49	0,022
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (3-й визит)	40	0,44	0,019
Мелатонин & ИЛ-8 (4-й визит)	40	0,42	0,012
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (4-й визит)	40	0,45	0,023

Таблица 16 – Корреляционная зависимость уровня мелатонина и интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов в контрольной группе

Показатели	N	$\tau$ -Кендалла	p-level
Мелатонин & ИЛ-8 (1-й визит)	40	-0,45	0,027
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (1-й визит)	40	-0,46	0,028
Мелатонин & ИЛ-8 (2-й визит)	40	0,42	0,016
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (2-й визит)	40	0,39	0,011
Мелатонин & ИЛ-8 (3-й визит)	40	0,39	0,01
Мелатонин & ИЛ-1 $\beta$ (3-й визит)	40	0,41	0,013

Как видно из данных, представленных в Таблицах 15 и 16, коэффициенты корреляции в обеих обследованных группах изменялись в динамике наблюдения. Наиболее высокие отрицательные коэффициенты корреляции наблюдались у пациентов до фактоэмульсификации возрастной катаракты (1-й и 2-й визит) основной и контрольной (1-й визит) групп. Отрицательная связь свидетельствовала о том, что чем выше уровень мелатонина в слезной жидкости, тем ниже уровень интерлейкинов.

На 3-5-й день после операции уровень цитокинов повышается в ответ на хирургическое вмешательство, прослеживается также повышение концентрации мелатонина в слезной жидкости. Однако через 1 месяц показатели уровня цитокинов и мелатонина снижаются. Корреляция на двух последних визитах после операции достоверно более слабая и прямая ( $p < 0,05$ ). Важно отметить, что корреляционные связи изученных показателей у пациентов основной группы более выраженные по сравнению с результатами у пациентов контрольной группы.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ показал, что исходные данные концентраций ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в обеих группах статистически не различались. После приема экзогенного мелатонина в течение 3 месяцев у пациентов основной группы непосредственно перед операцией содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  статистически значимо ниже, чем у пациентов контрольной группы. В раннем послеоперационном периоде эти показатели в обеих группах повысились, но были статистически значимо выше в контрольной группе. Наиболее высокие отрицательные коэффициенты корреляции между концентрациями мелатонина в слезной жидкости и интерлейкинами ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$  наблюдались у пациентов до факоэмульсификации в основной и контрольной группах. Была выявлена корреляционная связь между показателями факторов риска развития ВМД и концентрациями мелатонина в сыворотке крови и в слезной жидкости у исследуемых групп и групп сравнения. Установлены статистически значимые различия в концентрациях мелатонина в сыворотке крови и в слезной жидкости, провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов исследуемых групп с начальной и промежуточной стадиями ВМД до факоэмульсификации возрастной катаракты и в различные сроки после операции. Прослежена корреляционная связь между уровнем мелатонина и интерлейкинами ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости в разные сроки после хирургического лечения катаракты.

## **Глава 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ НАЗНАЧЕНИЯ МЕЛАТОНИНСОДЕРЖАЩЕЙ ТЕРАПИИ ПЕРЕД ФАКОЭМУЛЬСИФИКАЦИЕЙ КАТАРАКТЫ ПАЦИЕНТАМ С НАЧАЛЬНОЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ СТАДИЯМИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ**

Целью данной главы явилось обоснование назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоемульсификацией катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации. Для реализации поставленной цели решались следующие задачи:

- анализ клинико-функциональных показателей у пациентов основной контрольной групп до и после хирургического лечения катаракты;
- разработка алгоритма медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоемульсификацией возрастной катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации.

### **5.1. Динамика клинико-функциональных показателей**

Динамика морфофункциональных показателей пациентов с возрастной катарактой, начальной и промежуточной стадиями ВМД оценивалась с помощью методов визометрии, исследования аутофлуоресценции, микропериметрии, оптической когерентной томографии, ультразвуковой биомикроскопии.

Результаты исследований оценивались по визитам пациентов: 1-й визит – до операции, 2-й визит – на 3-14-й день после операции, 3-й визит – через 1 месяц после операции, 4-й визит – через 3 месяца после операции, 5-й визит – через 6 месяцев после операции.

Динамическая оценка максимально корригированной остроты зрения (МКОЗ) у пациентов исследуемых групп в зависимости от стадии ВМД представлена в Таблице 17 и Рисунке 32.

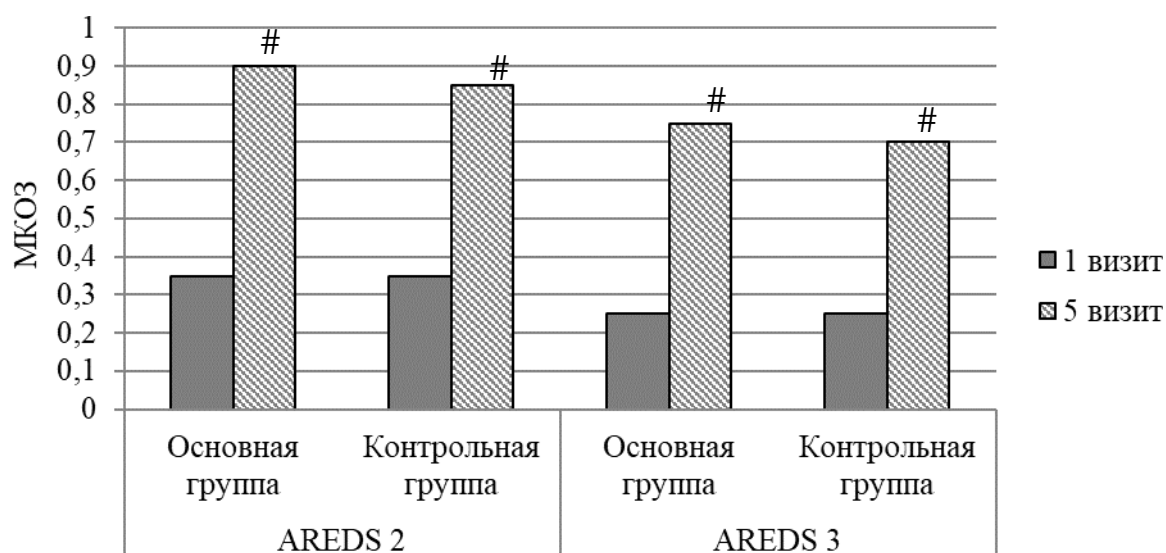
Таблица 17 – Динамика показателей МКОЗ у пациентов с ранней (AREDS 2) и промежуточной (AREDS 3) стадиями ВМД до и после факоемульсификации возрастной катаракты

Визиты	Основная группа		Контрольная группа	
	AREDS 2	AREDS 3	AREDS 2	AREDS 3
1-й	0,35 (0,25-0,5)	0,25 (0,15-0,5)	0,35 (0,2-0,5)	0,25 (0,2-0,5)
2-й	0,85 (0,75-0,9) <sup>#</sup>	0,8 (0,7-1,0) <sup>##</sup>	0,85 (0,7-0,9) <sup>#</sup>	0,8 (0,65-0,9) <sup>#</sup>
3-й	0,9 (0,85-1,0) <sup>#</sup>	0,85 (0,75-1,0) <sup>#</sup>	0,9 (0,8-1,0) <sup>#</sup>	0,8 (0,65-1,0) <sup>#</sup>
4-й	0,9 (0,85-1,0) <sup>#</sup>	0,8 (0,7-0,9) <sup>#</sup>	0,9 (0,75-0,9) <sup>#</sup>	0,75 (0,7-0,9) <sup>#</sup>
5-й	0,9 (0,9-1,0) <sup>#</sup>	0,75 (0,65-0,9) <sup>#</sup>	0,85 (0,8-0,9) <sup>#</sup>	0,70 (0,60-0,85) <sup>#</sup>

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  при сравнении основной группы с контрольной; # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$  при сравнении первого визита с последующими визитами;

Сравнительная характеристика результатов визометрии пациентов основной и контрольной групп до и через 6 месяцев после операции представлена на Рисунке 32.

У пациентов исследуемых групп исходная МКОЗ не отличалась (до операции), и медиана МКОЗ составляла 0,35 у пациентов категории AREDS 2 и 0,25 – категории AREDS 3. После хирургического лечения катаракты медиана МКОЗ статистически значимо увеличилась у пациентов категории AREDS 2 из обеих групп, категории AREDS 3 – контрольной ( $p < 0,05$ ) и основной групп ( $p < 0,01$ ). Статистически значимое увеличение МКОЗ по сравнению с первым визитом зарегистрировано через 1 месяц после факоемульсификации возрастной катаракты, через 3 и 6 месяцев ( $p < 0,05$ ). Такая закономерность прослеживается в обеих группах.



Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  при сравнении основной группы с контрольной; # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$  при сравнении первого визита с последующими визитами

Рисунок 32 – Сравнительная характеристика результатов по данным визометрии

Не было установлено статистически значимых различий между основной и контрольной группами. Тем не менее показатели MKOЗ в основной группе у пациентов категории AREDS 3 на фоне приема экзогенного мелатонина выше по сравнению с контрольной. При проведении исследования аутофлуоресценции динамических значимых изменений за весь период наблюдения не выявлено.

При выполнении микропериметрии оценивалась средняя яркостная чувствительность, стабильность фиксации, изменение локализации точки фиксации в пределах  $2^\circ$ , P1 (%), позволяющее оценить, является ли фиксация центральной или нет. Данные представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Динамика показателей микропериметрии у пациентов с неэкссудативной формой ВМД до и после хирургии катаракты

Параметр	Визит	Основная группа		Контрольная группа	
		AREDS 2	AREDS 3	AREDS 2	AREDS 3
Средняя яркостная чувствительность, дБ	1-й	23,2 (23,1-25,1)	21,9 (17,1-24,2)	23,4 (21,1-24,8)	19,8 (18,7-20,8)
	2-й	25,3 (24,5-26,3)	23,5 (16,2-25,2)	23,8 (23,7-24,1)	21,7 (15,3-23,9)
	3-й	27,3 (24,1-28,2)	24,3 (17,9-26,7)	24,7 (23,8-24,8)*	20,6 (15,1-21,2)*
	4-й	27,8 (24,3-28,8)	25,3 (19,8-26,9)	24,5 (23,9-25,8)*	21,7 (17,4-23,2)*
	5-й	27,5 (25,8-28,3)	24,7 (18,7-25,4)	24,1 (23,6-25,6)	21,9 (20,3-23,2)
Локализация точки фиксации в 2° от фовеолы, P1, %	1-й	88 (87-100)	87 (86-97)	87 (82-90)	90 (87-98)
	2-й	96 (95-99)	94 (92-97)	93 (89-94)	89 (86-94)
	3-й	99 (96,5-100)	97 (96,5-99)	94 (88-97)	91 (88-92)
	4-й	95,5 (90-100)	94,5 (90-100)	96,5 (94,7-98,7)	93,5 (87,9-98,7)
	5-й	98 (91-100)	94 (91-100)	96 (88-98,5)	94 (88-95,5)

Примечание: \* –  $p < 0,05$ - при сравнении основной группы с контрольной.

Показатели медианы средней яркостной чувствительности перед хирургическим лечением катаракты (1-й визит) между исследуемыми группами статистически не различались и составляли 23,2 дБ в основной и 23,4 дБ – в контрольной группах у пациентов категории AREDS 2. Данные показатели находятся в пределах пограничных значений светочувствительности сетчатки (нормальные значения варьируют от 25 до 36 дБ, пограничные значения от 22 до 24 дБ). У пациентов категории AREDS 3 показатели медианы средней яркостной чувствительности на 1-м визите в обеих группах также статистически не различались, но находились в зоне патологических значений – 21,9 и 19,8 дБ соответственно (менее 22 дБ

оценивается, как патологическое состояние). При этом зарегистрировано очаговое снижение чувствительности сетчатки, которое соответствует патологическим зонам (друзам), большая часть точек находится в пределах нормальных значений.

Стабильность фиксации оценивалась при помощи индекса устойчивости фиксации – показатель P1, который составлял более 75% точек фиксации, находящихся в круге диаметром 2° с центром в «центре тяжести» всех точек фиксации, что свидетельствовало об устойчивости фиксации. Фиксация стабильная, центральная в обеих группах, статистически значимых различий между группами в течение всего периода наблюдения не установлено.

При сравнении первого визита с последующими визитами внутри каждой группы не было установлено статистически значимых изменений в показателях микропериметрии во всех исследуемых группах. Установлено статистически значимое увеличение медианы средней яркостной чувствительности у пациентов категории AREDS 2 и AREDS 3 основной группы по сравнению с контрольной через 1 и 3 месяца после хирургического вмешательства ( $p < 0,05$ ), отмечалась тенденция к увеличению средней яркостной чувствительности и P1 на протяжении 6 месяцев после хирургического вмешательства в обеих группах, однако в основной группе на фоне приема экзогенного мелатонина эти показатели выше, по сравнению с контрольной. При этом зарегистрировано, что показатели медианы средней яркостной чувствительности восстановились до нормальных значений у пациентов основной группы категории AREDS 2 и AREDS 3, а также у пациентов контрольной группы категории AREDS 2, тогда как у пациентов контрольной группы категории AREDS 3 значения сохранялись в диапазоне пограничного состояния. Учитывая полученную закономерность изменений показателей средней яркостной чувствительности, которая оценивает функциональное состояние макулярной области, при этом острота зрения остается достаточно высокой в обеих группах весь послеоперационный период наблюдения, можно сделать вывод, что визометрия не может служить



основным методом оценки динамики терапии при неэкссудативной форме ВМД (AREDS 2, AREDS 3).

При выполнении УБМ оценивалась максимальная толщина базиса цилиарного тела и акустическая плотность цилиарного тела (Таблица 19).

Таблица 19 – Динамика показателей ультразвуковой биомикроскопии у пациентов с неэкссудативной формой ВМД до и после хирургии катаракты (показатели медианы и интерквартильного размаха)

Параметр	Визиты	Основная группа		Контрольная группа	
		AREDS 2	AREDS 3	AREDS 2	AREDS 3
Толщина базиса цилиарного тела, мм	1-й	0,75 (0,73-0,78)	0,76 (0,75-0,79)	0,76 (0,72-0,79)	0,76 (0,72-0,82)
	2-й	0,82 (0,79-0,88)#	0,84 (0,81-0,89)#	0,89 (0,84-0,92)*#	0,91 (0,86-0,93)*#
	3-й	0,79 (0,75-0,81)	0,81 (0,78-0,83)	0,78 (0,7-0,79)	0,85 (0,7-0,86)
	4-й	0,77 (0,73-0,80)	0,79 (0,76-0,82)	0,76 (0,75-0,79)	0,78 (0,75-0,87)
	5-й	0,76 (0,75-0,79)	0,78 (0,75-0,81)	0,77 (0,73-0,78)	0,77 (0,74-0,81)
Акустическая плотность, % (от исходной дооперационной плотности цилиарного тела)	2-й	26,17 (25,7-30,2)	28,5 (26,4-31,81)	30,87 (26,98-31,7)	32,4 (27,6-33,2)
	3-й	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности
	4-й	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности
	5-й	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$  –  $p < 0,01$  при сравнении основной группы с контрольной;  
# –  $p < 0,05$  – при сравнении первого визита с последующими визитами.

По данным ультразвуковой биомикроскопии, до операции цилиарное тело имело характерную треугольную или булавовидную форму, медианные исходные значения показателя толщины базиса цилиарного тела до хирургического лечения катаракты между основной и контрольной группами не различались. В послеоперационном периоде увеличение толщины цилиарного тела в связи с развитием острой воспалительной реакции было

закономерным. Через 7-14 дней после хирургического лечения толщина цилиарного тела увеличивалась в обеих группах: в основной группе на фоне приема экзогенного мелатонина у пациентов категории AREDS 2 на 9,3%, у пациентов категории AREDS 3 – на 10,52%, в контрольной у пациентов категории AREDS 2 на 17,1%, у пациентов категории AREDS 3 – на 19,73%. Установлено статистически значимое увеличение медианы толщины цилиарного тела на 7-14-й день после хирургического лечения катаракты по сравнению с исходными показателями как внутри каждой группы, так и в сравнении между обеими группами ( $p < 0,05$ ). Через 1, 3 и 6 месяцев показатели толщины цилиарного тела возвращаются к исходным значениям, статистических различий между группами и внутри каждой группы не выявлено. Изменение толщины цилиарного тела сопровождалось уменьшением его акустической плотности, которая снижалась до 30,87% в контрольной группе и до 26,17% – в основной на 7-14-й день после операции, при этом статистических различий между группами не выявлено. Через 1 месяц значения акустической плотности возвращались к исходному уровню и сохранялись весь период наблюдения (через 3 и 6 месяцев).

При проведении оптической когерентной томографии оценивались следующие параметры – центральная толщина сетчатки (ЦТС) и объем куба, отражающий общий объем макулярной зоны сетчатки (Таблица 20).

Таблица 20 – Динамика показателей оптической когерентной томографии у пациентов с неэкссудативной формой ВМД до и после хирургии катаракты

Параметр	Визиты	Основная группа		Контрольная группа	
		AREDS 2	AREDS 3	AREDS 2	AREDS 3
Центральная толщина сетчатки, мкм	1-й	278 (249,5-284)	281 (259-284)	283 (274-289)	300 (283-314)
	2-й	284 (271-296)	289 (281-309)	296 (283,5-318)*	307 (293,5-317)*
	3-й	278 (246-286)	288 (274-288)	293 (267-304)**	329 (297-336)**
	4-й	276 (266-287)	282 (278-283)	298,5 (301,2-303,7)*	328,5 (303,2-333)*
	5-й	276 (274-288)	284 (276-289)	305 (299-309)*	397 (340-402)* #

Vol, мм <sup>3</sup> (объем куба)	1-й	7,89 (7,78-8,67)	8,36 (7,88-8,76)	7,91 (7,90-8,61)	8,39 (8,07-8,77)
	2-й	8,6 (8,48-8,90)	8,76 (8,60-8,97)	8,65 (8,62-8,98)	8,75 (8,74-9,10)
	3-й	8,20 (7,88-8,80)	8,37 (8,25-8,73)	8,61 (8,37-8,65)	8,91 (8,69-9,2)*
	4-й	7,91 (8,02-8,23)	8,21 (8,12-8,58)	8,64 (8,38-8,71)	8,98 (8,59-9,2)
	5-й	7,95 (8,01-8,73)	8,37 (8,23-8,63)	8,62 (7,9-8,78)	8,99 (8,87-9,3) #

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  при сравнении основной группы с контрольной;  
# –  $p < 0,05$ ; при сравнении первого визита с последующими визитами.

По данным ОКТ, показатели медианы центральной толщины сетчатки и объема куба изменялись в динамике до операции, через 7-14 дней, 1, 3 и 6 месяцев. В основной и контрольной группах перед операцией показатели центральной толщины сетчатки и объема куба статистически значимо не различались и имели примерно одинаковый исходный уровень. В основной группе на фоне приема мелатонина зарегистрировано максимальное увеличение ЦТС на 7-14-й день после операции: у пациентов категории AREDS 2 увеличение ЦТС на 2,15%, у пациентов категории AREDS 3 – на 2,84% по сравнению с исходными данными. Через 3 и 6 месяцев после операции у пациентов категории AREDS 2 показатели ЦТС возвращаются к исходным значениям, тогда как у пациентов категории AREDS 3 к 6-месяцу происходит незначительное увеличение ЦТС на 1,06%, при этом статистическая значимость не выявлена. Аналогичные значения в контрольной группе повышаются по сравнению с исходной ЦТС у пациентов категории AREDS 2 на 5,4% через 3 месяца и максимально на 7,77% через 6 месяцев, у пациентов категории AREDS 3 – на 9,5% и максимально на 32,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Установлено, что объем куба в контрольной группе у пациентов категории AREDS 3 статистически значимо выше через 1 месяц после операции, чем в основной ( $p < 0,05$ ). В основной группе у пациентов категории AREDS 2 отмечается максимальное увеличение объема куба на

14-й день после операции на 8,9%, в дальнейшем наблюдается тенденция к снижению, но при этом значения сохраняются выше по сравнению с исходными на 3,9% (через 1 месяц), на 0,25% (через 3 месяца), на 0,7% (через 6 месяцев); у пациентов категории AREDS 3 максимальное увеличение объема куба зафиксировано также на 14-й день на 4,7%, дальнейшее снижение на 1,8% через 3 месяца после операции и возврат к исходным значениям через 6 месяцев. В контрольной группе прослеживается следующая тенденция: увеличение показателей объема куба: через 14 дней, 1, 3 и 6 месяцев после операции у пациентов категории AREDS 2 на 9,35, 8,84, 9,22 и 8,97%, у пациентов категории AREDS 3 – на 4,2, 6,19, 7,03 и 7,15% соответственно. При сравнении первого визита с последующими визитами внутри каждой группы не было установлено статистически значимых изменений в параметрах оптической когерентной томографии во всех исследуемых группах, исключение составили показатели ЦТС и объем куба через 6 месяцев после операции в контрольной группе пациентов категории AREDS 3. При сравнении первого визита с последующими визитами внутри каждой группы не было установлено статистически значимых изменений в параметрах ОКТ во всех исследуемых группах, исключение составили показатели ЦТС и объем куба через 6 месяцев после операции в контрольной группе пациентов категории AREDS 3.

Положительное влияние приема экзогенного мелатонина у пациентов с ранней и промежуточной стадиями ВМД при проведении факоэмульсификации катаракты по сравнению с контрольной группой подтверждается данными микропериметрии, ультразвуковой биомикроскопии и оптической когерентной томографии. Наименее информативными методами динамической оценки функционального состояния макулярной зоны у исследуемых пациентов после хирургического лечения возрастной катаракты являются визометрия и исследование аутофлуоресценции.

## **5.2. Разработка алгоритма медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоэмульсификацией возрастной катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации**

Учитывая полученные на основании клинико-экспериментальных данных результаты, разработан алгоритм медицинской технологии, включающий назначение мелатонинсодержащей терапии перед факоэмульсификацией возрастной катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации.

Пациентам с возрастной катарактой при выявлении признаков ВМД выполняется мультимодальная диагностика. Помимо стандартных офтальмологических обследований (визометрия, тонометрия, периметрия, биомикроскопия переднего и заднего отрезка) для подтверждения диагноза, выявления стадии ВМД, степени вовлеченности в патологический процесс макулярной зоны сетчатки рекомендовано проведение дополнительных исследований с мультимодальной визуализацией - исследование аутофлюоресценции, оптическая когерентная томография, ОКТ в режиме ангиография, микропериметрия. Затем проводится анкетирование (опросник STARS для выявления факторов риска ВМД) с включением дополнительных вопросов: наличие бессонницы и работа в ночные смены в течение жизни.

При выявлении ранней и промежуточной стадий ВМД (AREDS 2 и AREDS 3) пациентам рекомендован прием витаминно-минерального комплекса по формуле, рекомендованной AREDS. Согласно разработанной балльной системе, оценивается степень риска развития ВМД: 0-3 балла – низкий риск; 4-7 баллов – средний риск, 8-13 баллов – высокий риск (Таблица 21).

Пациентам при наличии бессонницы и работы в ночные смены в течение жизни дополнительно рекомендовано назначение мелатонин-содержащей терапии (Мелатонин 3 мг на ночь в течение 3 месяцев). Через 3

месяца пациенты с ранней и промежуточной стадиями ВМД (AREDS 2 и AREDS 3) планируются на фактоэмульсификацию возрастной катаракты. В дальнейшем данной категории пациентов рекомендуется динамическое наблюдение с проведением мульмодальной диагностики и назначением витаминно-минеральных комплексов антиоксидантного действия, содержащих лютеин и зеаксантин, согласно клиническим рекомендациям Общероссийской общественной организации «Ассоциация врачей-офтальмологов» (2017).

Таблица 21 – Скрининговый опросник, используемый для выявления факторов риска ВМД

<b>Параметр</b>	<b>Балл</b>
<b>Возраст</b>	
<65 лет	0
65-74 лет	1
>74 лет	2
<b>Наследственность</b>	
нет	0
да	1
<b>Курение</b>	
нет	0
да (<10 лет)	1
да (> 10 лет)	2
<b>Индекс массы тела</b>	
18,5-25 (норма)	0
25-30 (избыточная масса тела)	1
>30 (ожирение)	2
<b>Артериальная гипертония</b>	
нет	0
да (< 10 лет)	1
да (> 10 лет)	2
<b>Цвет глаз</b>	
темные	0
светлые	1
<b>Сон</b>	
отсутствие бессонницы	0
тревожный сон	1
выраженная бессонница	2
<b>Работа в ночные смены в течение жизни</b>	
нет	0
да	1

Графически алгоритм представлен на Рисунке 33.



Рисунок 33 – Алгоритм медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии

Обобщая полученные данные клинико-лабораторных показателей и клинико-функциональных параметров у пациентов основной и контрольной групп до и после хирургического лечения катаракты, для наглядности приводятся клинические примеры.

**Клинический пример 1.** Пациентка Б. 67 лет (контрольная группа), обратилась в Оренбургский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова с жалобами на постепенное, безболезненное снижение зрения левого глаза в течение последнего года. Диагноз при поступлении: возрастная ядерная катаракта, ВМД (неэкссудативная форма, AREDS 3).

В Таблице 22 представлены исходные характеристики пациентки для определения факторов риска прогрессирования ВМД, а также показатели концентрации мелатонина в сыворотке крови, мелатонина и интерлейкинов ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости до ФЭК с имплантацией ИОЛ.

Таблица 22 – Исходные характеристики пациентки контрольной группы для определения факторов риска прогрессирования ВМД

Параметр	Клинический пример 1 (контрольная группа)	
	<i>ответ</i>	<i>балл</i>
Возраст	67 лет	1
Наследственность	нет	0
Курение	нет	0
Индекс массы тела	28	1
Артериальная гипертензия	более 10 лет	2
Цвет глаз	светлые	1
Сон	бессонница	2
Ночные смены	да	1
<b>Итого</b>		<b>8</b>
ИЛ-8, пг/мл	61,2	
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	5,7	
Мелатонин в крови, нг/мл	0,027	
Мелатонин в слезной жидкости, нг/мл	0,124	

При фоторегистрации глазного дна, исследовании аутофлуоресценции при поступлении: диск зрительного нерва бледно-розовый с четкими



границами, ход и калибр ретинальных сосудов не изменен, в макулярной зоне – мягкие сливные друзы.

Пациентке выполнена факоэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ. На 3-й день после операции в макулярной зоне отмечено множество сливных мягких друз. При исследовании аутофлуоресценции зарегистрирована неравномерная флуоресценция с чередованием очагов гипо- и гиперфлуоресценции, отражающая повреждения РПЭ (линейный паттерн согласно классификации паттернов АФ [59]) (Рисунок 34).

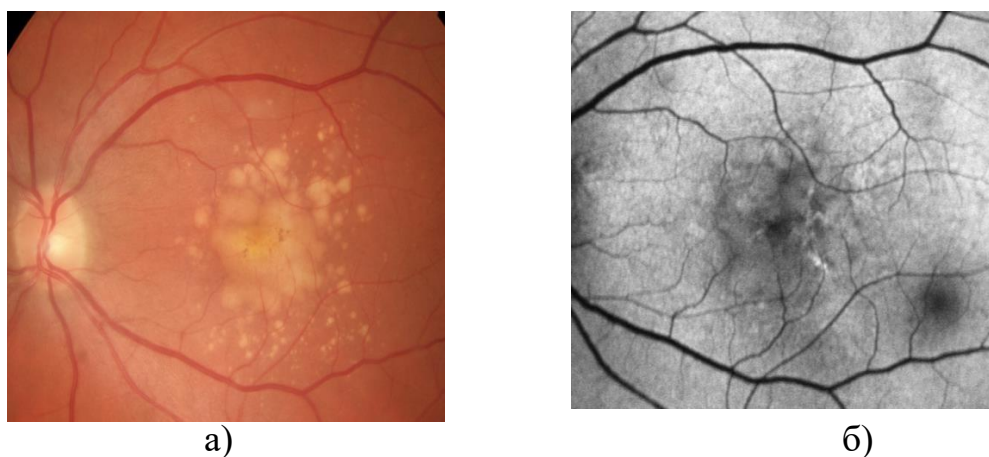


Рисунок 34 – фото глазного дна (а) и снимок аутофлуоресценции (б) пациентки контрольной группы на 3-й день после ФЭК+ИОЛ

По данным снимков фоторегистрации глазного дна и аутофлуоресценции объективно в динамике изменений не выявлено.

В Таблице 23 представлены количественные характеристики данных визометрии, микропериметрии с использованием параметров средней яркостной чувствительности, локализации точки фиксации в  $2^\circ$  от фовеолы, Р1, %; ультразвуковой биометрии с использованием параметров толщины базиса цилиарного тела, акустической плотности, % (от исходной дооперационной плотности цилиарного тела); оптической когерентной томографии по показателям центральной толщины сетчатки (мкм), Vol,

(объем куба, мм<sup>3</sup>) с использованием Гейдельбергского ретинального ангиографа (HRA Spectralis HRA+OCT).

Таблица 23 – Количественные характеристики визометрии, микропериметрии, УБМ и ОКТ у пациентки контрольной группы

Параметр	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	5-й визит
МКОЗ	0,4	0,8	0,8	0,75	0,7
Средняя яркостная чувствительность, дБ	19,6	21,5	20,5	21,2	20,6
Локализация точки фиксации в 2° от фовеолы, P1, %	97	94	90	91	89
Толщина базиса цилиарного тела	0,82	0,93	0,86	0,89	0,81
Акустическая плотность, % (от исходной дооперационной плотности цилиарного тела)		30	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности
Центральная толщина сетчатки, мкм	309	317	327	329	390
Vol, мм <sup>3</sup> (объем куба)	8,71	9,1	9,1	9,2	9,25

*Примечание:* 1-й визит – до операции, 2-й визит – 3-14-й день после операции, 3-й визит – через 1 месяц после операции, 4-й визит – через 3 месяца после операции, 5-й визит – через 6 месяцев после операции

По данным оптической когерентной томографии наблюдалось увеличение размеров друз (Рисунки 35, 36), а также площади друзеноидной отслойки РПЭ с усилением миграции клеток РПЭ во внутренние слои сетчатки.

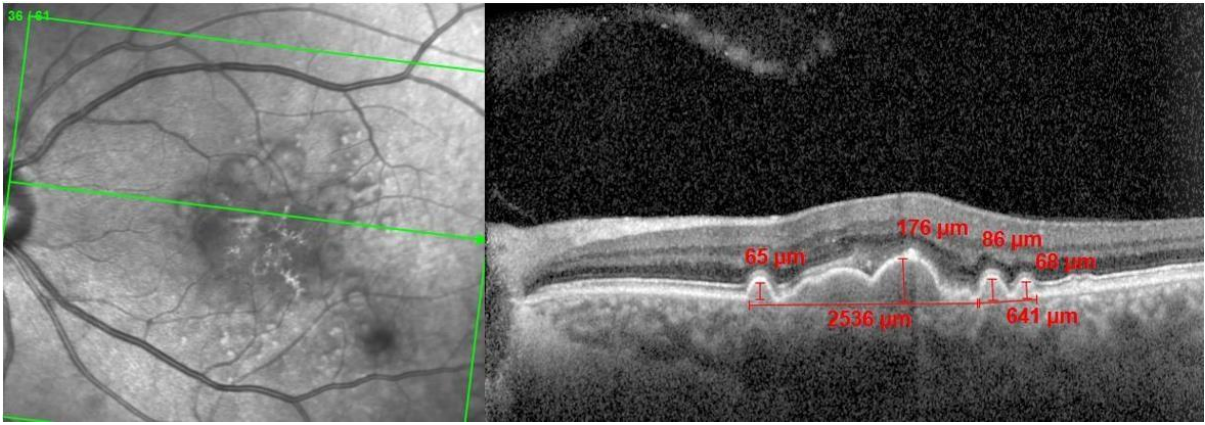


Рисунок 35 – ОКТ-сканограммы сетчатки с локальной приподнятостью РПЭ с гомогенным гипоэхогенным субпигментным содержанием (сливные мягкие друзы крупного и среднего калибра) на 3-й день после ФЭК+ИОЛ

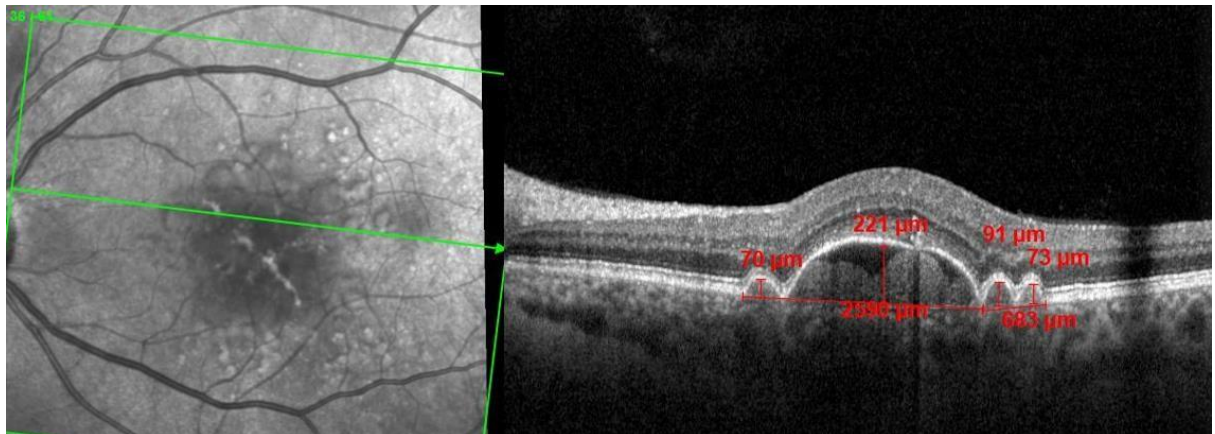


Рисунок 36 – Через 6 месяцев после операции наблюдается отрицательная динамика: формирование друзеноидной отслойки РПЭ и увеличение размеров друз мелкого и среднего калибров

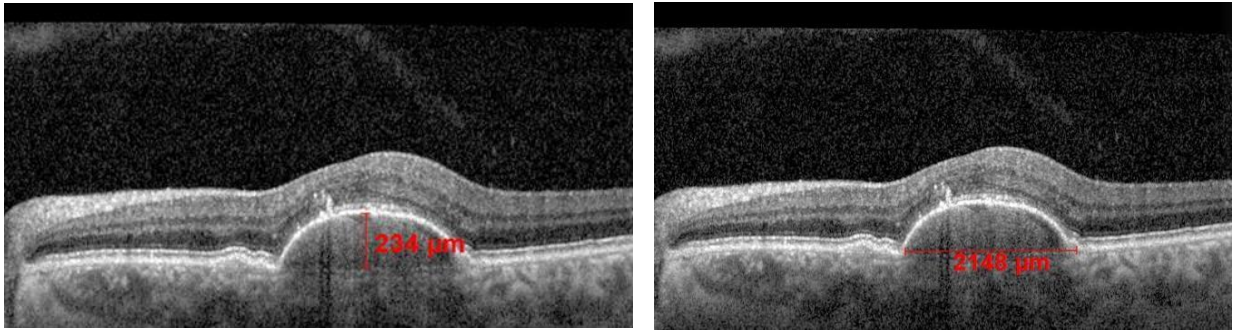


Рисунок 37 – ОКТ-сканограммы сетчатки. Друзеноидная отслойка РПЭ (2148 × 234) на 3-й день после ФЭК+ИОЛ

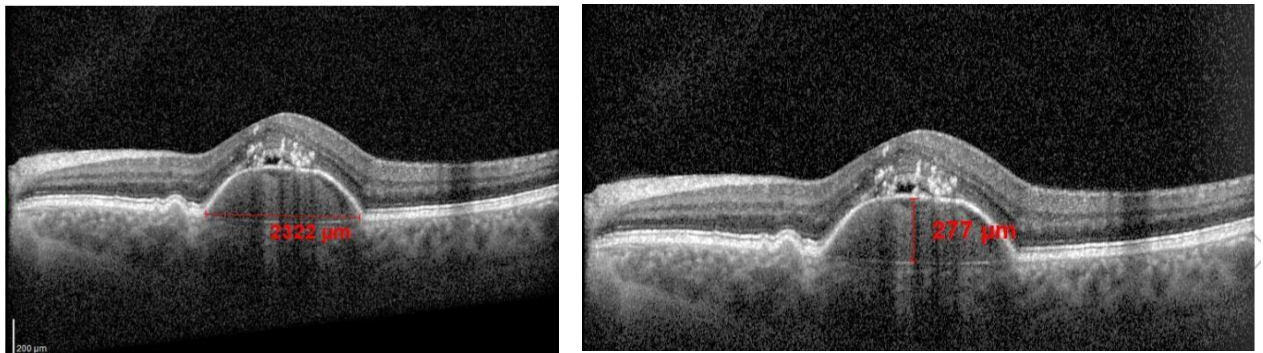


Рисунок 38 – Через 6 месяцев после операции сохраняется отрицательная динамика: увеличение размеров друзеноидной отслойки РПЭ (2332 × 277), усиление миграции клеток РПЭ во внутренние слои сетчатки

**Клинический пример 2.** Пациентка 3. 72 лет, (основная группа). Диагноз при поступлении: возрастная ядерная катаракта, ВМД (неэкссудативная форма, AREDS 3). За 3 месяца до хирургического лечения катаракты пациентка принимала Мелаксен 3 мг на ночь. В Таблице 24 представлены исходные характеристики пациентки для определения факторов риска прогрессирования ВМД, а также показатели концентрации мелатонина в сыворотке крови, мелатонина и интерлейкинов ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости до ФЭК с имплантацией ИОЛ.

Таблица 24 – Исходные характеристики пациентки основной группы для определения факторов риска прогрессирования ВМД

Параметр	Клинический пример 2 (основная группа)	
	<i>ответ</i>	<i>балл</i>
Возраст	72	1
Наследственность	нет	0
Курение	нет	0
Индекс массы тела	27	1
Артериальная гипертензия	более 10 лет	2
Цвет глаз	светлые	1
Сон	бессонница	2
Ночные смены	да	1
<b>Итого</b>		<b>8</b>
ИЛ-8, пг/мл	59,1	
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	5,3	
Мелатонин в крови, нг/мл	0,069	
Мелатонин в слезной жидкости, нг/мл	0,132	

При фоторегистрации глазного дна, исследовании аутофлуоресценции при поступлении выявлено: диск зрительного нерва бледно-розовый с четкими границами, ход и калибр ретинальных сосудов не изменен, в макулярной зоне – сливные мягкие друзы. Пациентке выполнена факоэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ.

На 3-й день после операции на снимке ОКТ в макулярной зоне выявлено множество кутикулярных друз. На снимке аутофлуоресценции зарегистрирована неравномерная флюоресценция с чередованием очагов гипо- и гиперфлюоресценции, отражающая повреждения РПЭ (пятнистый паттерн согласно классификации паттернов АФ [59]) (Рисунок 39).

По данным снимков фоторегистрации глазного дна и аутофлуоресценции объективно в динамике изменений не выявлено.



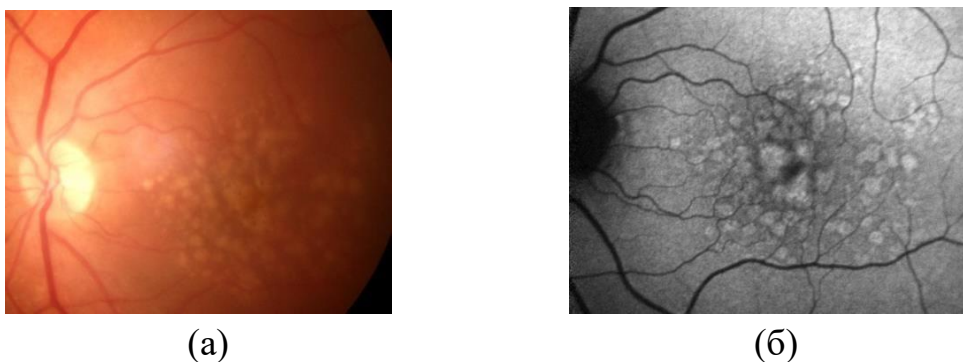


Рисунок 39 – фото глазного дна (а) и аутофлюоресценции (б) пациентки основной группы на 3-й день после ФЭК+ИОЛ

В Таблице 25 представлены количественные характеристики данных визометрии, микропериметрии с использованием параметров средней яркостной чувствительности, локализации точки фиксации в  $2^\circ$  от фовеолы, P1, %; ультразвуковой биометрии с использованием параметров: толщины базиса цилиарного тела, акустической плотности, % (от исходной дооперационной плотности цилиарного тела); оптической когерентной томографии по показателям центральной толщины сетчатки (мкм), Vol, (объем куба,  $\text{мм}^3$ ) с использованием Гейдельбергского ретинального ангиографа (HRA Spectralis HRA+OCT).

Таблица 25 – Количественные характеристики визометрии, микропериметрии, УБМ и ОКТ у пациентки основной группы

Параметр	1-й визит	2-й визит	3-й визит	4-й визит	5-й визит
МКОЗ	0,1	0,8	0,75	0,65	0,8
Средняя яркостная чувствительность, дБ	17,1	17,3	18,1	20,0	18,3
Локализация точки фиксации в $2^\circ$ от фовеолы, P1, %	90	90	99	99	100
Толщина базиса цилиарного тела, мм	0,78	0,85	0,81	0,79	0,77

Акустическая плотность, % (от исходной дооперационной плотности цилиарного тела)		28	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности	соответствует исходной плотности
Центральная толщина сетчатки, мкм	283	309	287	283	289
Vol, мм <sup>3</sup> (объем куба)	8,54	8,71	8,78	8,58	8,59

*Примечание:* 1-й визит – до операции, 2-й визит – 3-14-й день после операции, 3-й визит – через 1 месяц после операции, 4-й визит – через 3 месяца после операции, 5-й визит – через 6 месяцев после операции

По данным оптической когерентной томографии наблюдалось незначительное увеличение размеров друз (Рисунки 40, 41).

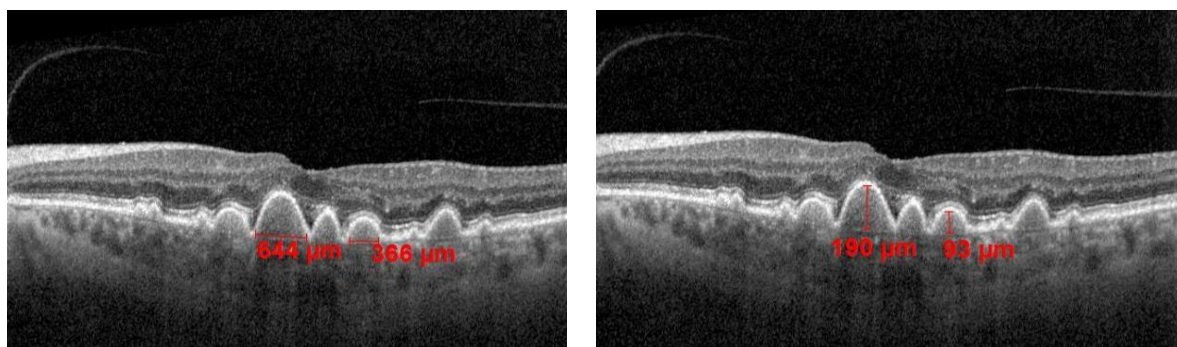


Рисунок 40 – ОКТ-снимок сетчатки с множественными кутикулярными друзами (большие зоны элевации РПЭ – базального ламинарного слоя в виде «холмов» с гипорефлективным содержимым). На 3-й день после ФЭК+ИОЛ

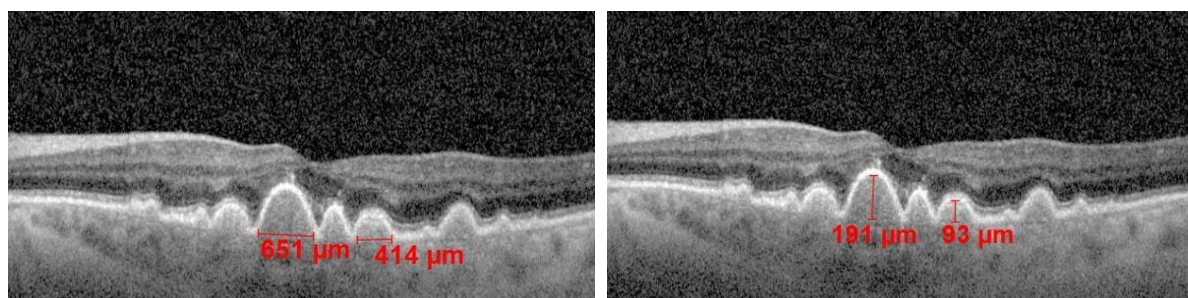


Рисунок 41 – ОКТ сетчатки с множественными кутикулярными друзами через 6 месяцев после ФЭК + ИОЛ

Представленные клинические примеры были подобраны, исходя из аналогичных исходных характеристик. Согласно данным анкетирования, пациентки входят в группу риска прогрессирования ВМД: возрастной интервал от 65-74 лет, индекс массы тела 28, 27 (избыточная масса тела), наличие сопутствующей соматической патологии (артериальная гипертония), светлый цвет глаз, бессонница, работа в ночные смены в анамнезе. Результаты анкетирования, уровень мелатонина и цитокинов у данных пациенток до операции были практически одинаковыми. Однако через 3 месяца после операции у пациентки основной группы, принимавшей мелатонин, произошли существенные изменения. Балл по результатам анкетирования снизился с 8 до 6, что связано с нормализацией сна и повышением уровня мелатонина, как в крови, так и в слезной жидкости в 4,6 и 1,6 раза (0,081 и 0,217 нг/мл) соответственно. В контрольной группе анкетный балл не изменился, значения концентрации мелатонина не претерпели значительных изменений.

Уровни ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  снизились через 1 месяц после операции, как у пациентки основной группы (в 2,4 и 4,3 раза, соответственно – 23,2 и 1,27 нг/мл), так и у пациентки контрольной группы (в 2,5 и 4,1 раза соответственно). По данным визометрии, у пациенток обеих групп наблюдалось повышение МКОЗ к 14-му дню после операции с незначительными колебаниями в сроки до 6 месяцев. По данным параметра средней яркостной чувствительности наблюдалась тенденция к повышению в обоих случаях, и максимальные значения были зарегистрированы через 3 месяца после операции, через 6 месяцев отмечено снижение данного показателя. Однако в клиническом примере 2 (на фоне приема мелатонина) показатели повышались по сравнению с исходными через 1 месяц на 5,84%, через 3 месяца – на 16,95%, через 6 месяцев – на 7,01%, тогда как за этот же период наблюдения в клиническом примере 1 (пациентка контрольной группы) эти показатели повышались менее значительно – на 4,6, 8,2 и 5,1% за аналогичные периоды.



По результатам УБМ, максимальные значения толщины базиса цилиарного тела зарегистрированы на 14-й день после операции: на 8,9% у пациентки основной группы и на 13,4% – контрольной (по сравнению с дооперационным уровнем). В дальнейшем наблюдалась тенденция к снижению: через 1 месяц на 6 и 4,87% соответственно, к 3-му месяцу – на 3,84 и 8,5% соответственно, и к 6 месяцам значения возвращались к исходным в обеих группах.

По показателям центральной толщины сетчатки у пациентки основной группы максимальные значения зарегистрированы через 14 дней (повышение на 9,1% по сравнению с исходными данными). В остальные сроки наблюдалась тенденция к снижению: на 1,4% через 1 месяц, через 3 месяца – возврат к исходным значениям. Через 6 месяцев – незначительное увеличение на 2%. Тогда как у пациентки контрольной группы отмечалась стабильная тенденция к повышению данного показателя: на 2% на 14-й день после операции, на 5,82% – через 1 месяц, на 6,47% – через 3 месяца. Максимальные значения зарегистрированы через 6 месяцев.

При детальном анализе данных оптической когерентной томографии через 6 месяцев у пациентки контрольной группы отмечается образование друзеноидной отслойки РПЭ в результате слияния друз крупного калибра, с увеличением миграции клеток РПЭ, накопление субретинальной жидкости, тогда как у пациентки основной группы отмечалось лишь незначительное увеличение размеров друз (см. Рисунки 36, 38, 41).

Пероральный прием мелатонина в течение 3 месяцев перед факоэмульсификацией возрастной катаракты позволяет снизить воспалительный ответ на хирургическое лечение и риск прогрессирования ВМД.

Таким образом, позитивное влияние приема пациентами экзогенного мелатонина перед факоэмульсификацией катаракты заключалось в выявленном противовоспалительном эффекте по данным ультразвуковой биомикроскопии и оптической когерентной томографии. Анализ данных

толщины базиса цилиарного тела и акустической плотности, центральной толщины сетчатки, объема куба свидетельствует, что при приеме мелатонина у пациентов основной группы с ВМД категории AREDS 2, 3 выраженность воспалительной реакции после факоэмульсификации возрастной катаракты ниже по сравнению с контрольной.

При этом наиболее статистически значимые различия наблюдаются в течение 1 месяца после операции (по данным показателей центральной толщины сетчатки, объема куба толщины базиса цилиарного тела, акустической плотности ( $p < 0,05$ )). Увеличение толщины цилиарного тела со снижением его акустической плотности после проведенной хирургии возрастной катаракты можно расценивать как акустические признаки послеоперационного воспаления (отека). Следует отметить, что более выраженная воспалительная послеоперационная реакция наблюдалась в контрольной группе, по сравнению с основной, что может свидетельствовать о противовоспалительном характере гормона мелатонин. В функциональном плане стабилизирующий эффект мелатонинсодержащей терапии подтверждался данными микропериметрии. Установлено статистически значимое увеличение медианы средней яркостной чувствительности у пациентов категории AREDS 2 и AREDS 3 основной группы по сравнению с контрольной через 1 и 3 месяца после хирургического вмешательства ( $p < 0,05$ ). Отмечалась тенденция к увеличению средней яркостной чувствительности на протяжении 6 месяцев после хирургического лечения в обеих группах, однако в основной группе на фоне приема экзогенного мелатонина эти показатели выше, по сравнению с контрольной. Для динамической оценки функционального состояния макулярной зоны исследуемых пациентов после хирургического лечения возрастной катаракты визометрия и исследование аутофлуоресценции без установленной программы количественного анализа подсчета друз в устройстве диагностического оборудования ОКТ-томографа являются наименее информативными методами.

Итогом данного клинико-экспериментального исследования явилась разработка алгоритма медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоемульсификацией возрастной катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации. Проведенные в отдаленном послеоперационном периоде высокоинформативные мультимодальные диагностические исследования показали результативность разработанного алгоритма, зафиксировав снижение прогрессирования возрастной макулярной дегенерации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск объективных предикторов ВМД для оценки её прогрессирования, а также эффективных патогенетически ориентированных медикаментозных направлений для профилактики прогрессирования заболевания является значимой проблемой для фундаментальной и практической офтальмологии. Большой интерес к данной проблеме вызван увеличением частоты встречаемости ВМД у населения. В возрасте 45-85 лет глобальная распространенность ВМД составляет 8,7%. Число людей с ВМД в 2020 году оценивалось в 196 миллионов, и по предположительным статистическим данным это число увеличится до 288 миллионов в 2040 году. В 2015 году ВМД была четвертой по распространенности причиной слепоты во всем мире [125].

В настоящее время проводится множество исследований с целью поиска эффективных препаратов для предотвращения данного заболевания и поддержания высоких зрительных функций.

Накоплено немало данных о возможности использования мелатонина в различных областях медицины, включая офтальмологию [71, 174]. В последние годы все большее внимание привлечено к потенциальным свойствам мелатонина относительно предупреждения прогрессирования ВМД [86, 188]. Известно, что мелатонин является мощнейшим антиоксидантом, обладает противовоспалительными и протекторными свойствами, влияет на митохондриальные дисфункции, и, следовательно, может представлять надежный инструмент для противодействия возрастным изменениям, в том числе болезням глаз [133, 184, 188].

Особый интерес представляют экспериментальные исследования по моделированию состояния ВМД у лабораторных животных, что позволяет понять причины развития и прогрессирования данного состояния, а также стать основой для тестирования новых методов лечения [166]. Несмотря на

большое количество разработанных моделей, ни одна из них до сих пор не воспроизводит все особенности ВМД. Однако уже существующие модели помогли выявить роль хронического окислительного повреждения, воспаления и иммунной дисрегуляции, а также липидного обмена в развитии ВМД [43, 88, 135, 171, 214]. Ряд авторов отмечает преимущества использования кроликов в качестве модели хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) [111]. Сообщается, что подобные модели являются высокоэффективными и воспроизводимыми. Так, в исследованиях отмечалась 60-83% вероятность возникновения экспериментальной субретинальной неоваскуляризации у кроликов при ее моделировании различными способами [170].

Исходя из результатов крупного когортного исследования распространенности болезней глаза в популяции старше 50 лет следует предположить, что каждый 4-й пациент с катарактой имеет ВМД. В настоящее время продолжается активная дискуссия относительно возможного влияния неосложненной хирургии катаракты на течение ВМД [32]. Вместе с тем результаты Кокрейновского обзора публикаций, посвященных этому вопросу, указывают на потребность дальнейшего изучения влияния катарактальной хирургии на течение ВМД [68]. При этом в качестве физиологического фактора, обладающего мультимодальным действием, направленным на снижение риска развития ВМД, перспективным представляется изучение возможностей мелатонина [81].

Целью настоящей работы стала разработка медицинской технологии, включающей назначение мелатонинсодержащей терапии перед факоэмульсификацией катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации для профилактики прогрессирования последней на основании экспериментально-гистологических и клинико-лабораторных исследований.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: экспериментально обосновать противовоспалительное и антиапоптотическое

действие мелатонина при моделировании фототоксической, лазер-индуцированной центральной дегенерации сетчатки *in vivo*; определить содержание мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и катарактой до фактоэмульсификации, оценить корреляционную связь между концентрацией мелатонина в исследуемых средах с факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации; определить концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки после проведения фактоэмульсификации; определить содержание интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в слезной жидкости у пациентов с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации до и в различные сроки после хирургии катаракты и оценить характер связи между интерлейкинами ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  и уровнем мелатонина в слезной жидкости; разработать алгоритм тактики ведения пациентов с катарактой, начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации, включающий назначение мелатонинсодержащей терапии перед проведением фактоэмульсификации.

Данная работа представляла собой двухэтапное исследование: первый этап – экспериментальная часть, включающая оценку реорганизации, про- и антиапоптотической характеристик цитоархитектоники сетчатки в эксперименте. После получения результатов экспериментальных исследований и проведенного анализа морфологических критериев приступали ко второму этапу – клинической части, которая включала проведение и анализ результатов анкетирования для выявления факторов риска прогрессирования ВМД, клинико-лабораторных, морфометрических исследований у пациентов с ВМД и возрастной катарактой.

Проведенные в данной работе экспериментально-гистологические исследования позволили получить управляемую модель центральной дегенерации сетчатки, основанную на комплексном лазер-индуцированном

воздействию и фототоксическом повреждении сетчатки у кроликов породы шиншилла, которая соответствовала морфологическим признакам центральной хориоретинальной дистрофии (Патент РФ на изобретение № 2727872).

Интравитреально лазерным наконечником офтальмологического фотокоагулятора Vitra (Quantel Medical, Франция) твердотельного зеленого лазера с диодной накачкой (длина волны – 532 нм) наносили 15-45 коагулятов в центральной зоне сетчатки до появления слабо-желтого пятна в субпороговом режиме: диаметр пятна 150 мкм, мощность 80-100 мВт, экспозиция – 0,01 сек. Диаметр повреждения – 1 ДЗН, затем эту зону обрабатывали светом с помощью световода с ксеноновой лампой офтальмологической микрохирургической системы Stellaris PC (Bausch + Lomb, Ирландия) 25 Лм в течение 10 минут в режиме максимальной яркости светового потока. Данные параметры были выбраны на основании анализа современных литературных данных дозирования определенных длин волн ксенонового и лазерного источников облучения с целью вызвать минимальную степень повреждения лазером, запуская при этом хроническое воспаление. Авторы в своих моделях на животных наблюдали такие изменения в центральной зоне сетчатки, как отек сетчатки, гибель фоторецепторных клеток, разрушение гематоретинального барьера, неоваскуляризацию хориоидеи, явления апоптоза [103, 180, 186, 216]. Указанные характерные морфологические признаки соответствовали полученным изменениям в экспериментальной модели центральной дегенерации сетчатки, основанной на комплексном лазер-индуцированном воздействии и фототоксическом повреждении сетчатки в данной работе.

Морфологическая картина представляла собой преимущественное поражение хориокапиллярного слоя увеального тракта, стекловидной мембраны Бруха, всех слоев сетчатки вплоть до ее отслойки и ретиношизиса. В поздние сроки наблюдения (60, 90 суток) обнаружены экссудативно-дистрофические явления с наличием субретинальных включений,

формирование которых было связано с ретинальным пигментным эпителием, нельзя исключить отложения аморфного материала между мембраной Бруха и РПЭ. Нарастали пигментная дистрофия и деструкция палочек и колбочек, неоваскулогенез сетчатки, дистрофические изменения внутренней пограничной мембраны и стертость морфологических границ между сетчаткой и хориоидеей, тромбозы сосудов микроциркуляторного русла, а в последующем (90 суток) – очаги рубцевания сетчатки. В своей совокупности данные морфологические изменения свидетельствовали о существенной центральной хориоретинальной дистрофии неоваскулярной формы, что соответствует данным современной литературы. В литературе отмечается патологическое сходство моделируемой ХНВ у кроликов с развитием данной патологии у человека: признаки воспаления, усиление пролиферации сосудов, проникновение новых сосудов через мембрану Бруха в субретинальное пространство [73, 168, 170].

Анализ полученных результатов показал, что введение мелатонина экспериментальным животным приводило к уменьшению признаков экссудативных явлений в центральной зоне сетчатки за счет уменьшения пигментной дистрофии и кровоизлияний, деструкции и снижения апоптозной доминанты. При этом уменьшались признаки деструкции пигментного эпителия, глиальных клеток и мембраны Бруха, выраженность повреждений аксонов ганглионарных нейронов. Литературные данные свидетельствуют о важной роли мелатонина в реализации и оптимизации фаз воспаления в субретинальном пространстве [5].

В опытной и контрольной группах (по 9 экспериментальных животных) было проведено сравнение некоторых морфометрических показателей. По нашим данным, при экспериментальном моделировании центральной дегенерации сетчатки с фототоксическим повреждением значительно снижается протяженность ганглионарного и внутреннего плексиформного слоев. Это происходит на фоне резкого понижения



численности фоторецепторов, что приводит к снижению качества и объема афферентной информации.

По результатам исследования через 30 суток в контрольной группе (без введения мелатонина) количество фоторецепторных клеток ( $87,5 \pm 6,1$  ед.) снижено на 55,1%, в опытной группе (с введением мелатонина) также достоверно ниже на 39,8% ( $118,5 \pm 6,6$  ед.) в сравнении с интактной группой ( $194,7 \pm 12,1$  ед.), согласно t-критерию Стьюдента ( $p < 0,001$ ). Однако количество фоторецепторов в опытной группе достоверно выше на 15,9% в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

На 60-е сутки количество фоторецепторных клеток снизилось в обеих группах: в контрольной группе ( $74,7 \pm 4,4$  ед.) – на 61,7%, в опытной группе ( $93,4 \pm 3,7$  ед.) – на 52%. Однако снижение фоторецепторных клеток достоверно только при введении мелатонина ( $p < 0,01$ ), достоверность снижения в обеих группах t-критерием Стьюдента не доказана. При последующих измерениях тенденция к снижению в контрольной группе сохраняется.

На 90-е сутки количество фоторецепторных клеток в контрольной группе ( $75,6 \pm 3,6$  ед.) снижено на 61,2%. При этом, в опытной группе количество клеток ( $7,1 \pm 2,9$  ед.) возросло на 2%, достоверность различий по t-критерию Стьюдента составляет  $p < 0,001$ . Снижение количества фоторецепторных клеток при формировании экспериментальной модели центральной дегенерации сетчатки соответствует данным ряда авторов, которые также наблюдали аналогичные изменения в экспериментальных моделях на различных лабораторных животных (крысах, мышах и кроликах) [31, 155, 180]. Однако в опытной группе на фоне введения мелатонина экспериментальным животным количество фоторецепторных клеток выше по сравнению с контрольной весь период наблюдения, что указывает на позитивное влияние мелатонина на сохранение цитоархитектоники сетчатки. Полученные данные соответствовали результатам китайских ученых, которые показали в своем исследовании, что экзогенный мелатонин

способствует защите клеток сетчатки от окислительного повреждения и препятствует развитию дегенерации желтого пятна [210].

Для гистологической оценки про- и антиапоптотической характеристик клеток сетчатки проводили иммуногистохимическое исследование полученных тканей сетчатки глаз экспериментальных животных с проведением двухэтапных реакций по идентификации белка – маркеров апоптоза p53 и антиапоптотического белка bcl-2.

Установлено, что p53 и bcl-2 находятся в тесном взаимодействии в процессе регуляции апоптоза. У экспериментальных животных под влиянием пероральной суспензии мелатонина в опытной группе идентифицированы только p53-позитивные ганглионарные клетки, тогда как в контрольной группе зарегистрированы p53-позитивные ганглионарные нейроны и мюллеровы глиоциты весь период наблюдения (30, 60, 90 суток) с небольшим их увеличением к 90-м суткам. Однако показатели в контрольной группе выше по сравнению с опытной. В контрольной группе на 30-е сутки среднее значение p53-позитивных ганглионарных клеток составило 0,11%, в группе, которой вводился мелатонин, – 0,04%. На 60-е сутки эксперимента, количество данных клеток в контрольной группе достоверно увеличилось до значения 2,5% ( $p < 0,001$ ), в опытной группе они выявлены не были. На 90-е сутки в контрольной группе данные клетки увеличились до значения 2,9% без доказанной достоверности. В опытной группе среднее значение p53-позитивных ганглионарных клеток на 90-е сутки составило 1,4%, достоверность в сравнении с 30-ми сутками эксперимента  $p < 0,001$ . В опытной группе p53-позитивные мюллеровы глиоциты не идентифицированы, тогда как в контрольной группе зарегистрированы весь период наблюдения небольшим их увеличением к 90-м суткам: на 30-е сутки составляли 0,29%, на 60-е сутки достоверно, с вероятностью  $p < 0,001$ , увеличились до 3,1%, на 90-е увеличились до значения 4,2% без доказанной достоверности. Только в опытной группе (с введением мелатонина) были обнаружены bcl-2-позитивные ганглионарные клетки: на 30-е сутки – 1,6%, на

60-е сутки эксперимента они выявлены не были, на 90-е составили 1,8‰, достоверность изменений не доказана, тогда как в контрольной группе bcl-2-позитивных ганглионарных клеток не зарегистрировано. В опытной группе, которой вводился мелатонин, bcl-2-позитивные мюллеровы клетки были обнаружены на 30-е сутки, они составляли 2,9‰, на 60-е сутки снизились до 2,6‰, достоверность при этом не доказана, на 90-е сутки достигли значения 2,9‰, также без доказанной достоверности. В контрольной группе bcl-2 позитивные мюллеровы клетки были обнаружены только на 90-е сутки и составили 1,7‰.

По всем показателям определены общие тенденции: интактная группа с высокой вероятностью различается с контрольной и опытной группами. Показатели в опытной группе на 30-е сутки достоверно различаются с группой без введения мелатонина, однако на 60-е сутки, в большинстве случаев, достоверность различий не доказана. На 90-е сутки эксперимента в обеих группах показатели, в целом, снижаются, однако с разной степенью достоверности.

На сегодняшний день известно, что эти белки обладают также и неапоптозными функциями [84], в частности указывается об участии p53 в регуляции процессов метаболизма. Вероятно, зарегистрированные p53-позитивные ганглионарные (преимущественно в контрольной группе) и мюллеровы клетки (только в контрольной группе) связаны с нарушением гомеостаза в сетчатке, который в свою очередь может привести к ишемическим состояниям и нейродегенеративным процессам. В опытной группе выявлено понижение проапоптотической доминанты у мюллеровых глиоцитов, ганглионарных клеток за счет экспрессии синтеза антиапоптотического белка bcl-2. Полученные результаты, свидетельствующие о позитивном влиянии мелатонина на экссудативные явления и процессы апоптоза в центральной зоне сетчатки, показанные на сформированной динамической управляемой фото- и лазер-индуцированной

модели центральной дегенерации сетчатки, позволили перейти ко второму этапу работы.

В клинической части исследования на первом этапе были сформированы пять групп с целью изучения характера связи между содержанием мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости и выявления связи с факторами риска развития ВМД. В основную и контрольную группы вошли по 40 пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД и возрастной катарактой, планируемые на фактоэмульсификацию. В 3-ю, 4-ю и 5-ю референтные группы вошли по 20 пациентов с разными стадиями ВМД по классификации AREDS и с возрастной катарактой, не нуждающихся в хирургическом лечении. Пациентам всех групп проводилось анкетирование для выявления факторов риска развития ВМД по опроснику STARS и выполнялось иммунологическое обследование на выявление концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости.

В скрининговый опросник для определения факторов риска развития ВМД дополнительно были включены вопросы о наличии бессонницы и работы в ночные смены в течение жизни. По результатам анкетирования согласно шкале Чеддока, распределение качественной характеристики связи между факторами риска развития ВМД и количеством мелатонина происходило следующим образом: обратная, заметная сила связи установлена среди факторов риска развития ВМД, таких как возраст, курение, индекс массы тела (ИМТ).

В данном исследовании было показано, что содержание мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости было намного ниже у пациентов с ВМД в возрасте 65-74 лет, что соответствует возрастному периоду наиболее высокой распространенности ВМД. В ходе проведенного исследования было показано, что содержание мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости снижалось у пациентов с ВМД при наличии ожирения (ИМТ>30) и артериальной гипертензии, относительно пациентов с ВМД без ожирения и

гипертонии. Была доказана связь между высоким индексом массы тела и ВМД. Избыточный вес и ожирение являются значимыми факторами риска артериальной гипертонии. По результатам различных исследований, основными факторами риска развития ВМД являются возраст, курение, этническая принадлежность, наследственность, пониженный уровень антиоксидантов в организме [70, 96].

Обратная, заметная и высокая сила корреляционной связи зарегистрирована между содержанием мелатонина в исследуемых биосубстратах и факторами риска, таких как бессонница (0,5-0,9), наличие артериальной гипертонии (0,6-0,8), работа в ночные смены в течение жизни (0,5-0,8). Известно, что содержание мелатонина в организме у лиц, работающих длительное время в ночные смены [208, 195] и страдающих бессонницей, снижено, что нужно также учитывать при сборе анамнеза. Мелатонин является веществом, основной функцией которого является контроль цикла сон-бодрствование. Однако знания о связи между нарушением сна и ВМД ограничены. Определение бессонницы варьируется в разных исследованиях, однако пожилые люди с возрастом испытывают все большие трудности в засыпании и продолжительности сна. Частота симптомов бессонницы достигает 50% у взрослых в возрасте 65 лет и старше. Значимые взаимосвязи между длительностью сна и прогрессированием ВМД были обнаружены в нескольких исследованиях [195].

Установлена прямая, заметная сила связи (0,5-0,6) между концентрациями мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости и фактором риска цвет радужной оболочки: чем более выражена пигментация радужной оболочки, тем выше уровень мелатонина в исследуемом биологическом материале. ВМД чаще встречается среди людей со светлыми глазами, чем с темными [150]. Предполагают, что изменение подавления синтеза мелатонина светом связано с пигментацией глаз. Процент подавления синтеза мелатонина у светлоглазых значительно больше, чем у темноглазых людей [120].

Значения мелатонина в сыворотке крови у пациентов с факторами риска составили от 0,02 до 0,051 нг/мл, у пациентов без факторов риска значения варьировались от 0,062 до 0,071 нг/мл. Было установлено, что пациенты в возрастном интервале 64-75 лет, с индексом массы тела >30 (ожирение), артериальной гипертонией, светлым цветом глаз, наличием бессонницы и ночных смен имели более низкие значения мелатонина в сыворотке крови на 19, 34, 58, 46, 68 и 17% ( $p < 0,05$ ) соответственно, по сравнению с пациентами в возрасте младше 65 лет, с индексом массы тела 18,5-25 (норма), без артериальной гипертонии, с темным цветом глаз, тревожным сном и отсутствием ночных смен.

Аналогичная динамика наблюдалась при изучении уровня мелатонина в слезной жидкости. Отмечалось статистически значимое снижение уровня мелатонина у пациентов с факторами риска относительно пациентов без них на 39, 70, 76, 61, 72 и 39% соответственно ( $p < 0,05$ ). Значения мелатонина в слезной жидкости у пациентов с факторами риска составили от 0,073 до 0,131 нг/мл, у пациентов без факторов риска значения варьировались от 0,189 до 0,311 нг/мл. Следует отметить, что современная литература содержит недостаточное количество информации, доказывающей и оценивающей содержание мелатонина в слезной жидкости. В базе данных PubMed был обнаружен только единственный источник, доказывающий наличие мелатонина в слезной жидкости человека [66]. В 2017 году Carracedo G. с соавторами показали, что утром и вечером уровень мелатонина у человека в слезной жидкости оставался стабильным, но он удваивал концентрацию в течение ночи. В настоящее время отсутствуют данные о его концентрации у пациентов с возраст-ассоциированными заболеваниями, такими как ВМД и катаракта, в связи с этим результаты иммунологических исследований (концентрации мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости, корреляционные связи) показаны впервые.

Наибольшая корреляционная связь между концентрациями мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости выявлена у группы условно-здоровых

лиц (0,5) и основной группы (0,4) на фоне приема мелатонина в течение 3 месяцев.

При количественной оценке мелатонина в биологических средах было отмечено, что содержание мелатонина в сыворотке крови достаточно широко колеблется (от 0,001 до 0,161 нг/мл) у всех обследованных лиц, при этом наибольшая медиана значений мелатонина отмечена у пациентов у условно-здоровых лиц (0,125 нг/мл), наименьшая – у пациентов с нВМД (0,021 нг/мл). При сравнении концентрации мелатонина в сыворотке крови исследуемых групп накануне перед операцией с группой условно-здоровых лиц были установлены более низкие значения мелатонина у пациентов с нВМД (на 83,2%), у пациентов без катаракты с ВМД (0,082 нг/мл) – на 34,4%, у пациентов контрольной группы (0,089 нг/мл) – на 28,8%. Однако у пациентов основной группы (0,114 нг/мл), принимавших мелатонин на протяжении 3 месяцев до операции, концентрация мелатонина была практически на одинаковом уровне со значениями группы условно-здоровых лиц. Существует мнение, что эпифиз посредством мелатонина, осуществляя контроль над эндокринной, нервной и иммунной системами, интегрирует системный ответ на неблагоприятные факторы, воздействуя на резистентность организма [29]. Содержание сывороточного мелатонина позволяет косвенно судить о продукции мелатонина эпифизом и другими органами и тканями. В связи с этим у всех людей механизм защиты срабатывает неоднородно, что приводит к высоким колебаниям содержания мелатонина в сыворотке крови.

На фоне сывороточного мелатонина, уровень мелатонина в слезной жидкости варьировал от минимальных до максимальных значений более чем в 10 раз, при этом его наибольшая медиана (0,324 нг/мл) выявлена у пациентов основной группы (на фоне применения экзогенного мелатонина). У пациентов контрольной и референтных групп: без катаракты с ВМД (0,147 нг/мл) и с нВМД (0,07 нг/мл) – достоверно снижено содержание мелатонина в слезной жидкости по сравнению с аналогичным уровнем в группе условно-

здоровых лиц (0,301 нг/мл). Проведенное лечение перед факоэмульсификацией катаракты с включением мелатонинсодержащей терапии у пациентов с ВМД основной группы способствовало увеличению концентрации мелатонина в слезной жидкости. У пациентов с нВМД уровень мелатонина был ниже на 76,7%, у пациентов контрольной группы (0,124 нг/мл) – на 58,8% и у пациентов без катаракты с ВМД – на 51,1%, уровень мелатонина пациентов основной группы находился в пределах значений условно-здоровых лиц. Во всех изучаемых биосубстратах наименьший уровень мелатонина фиксировался в группе с нВМД, а употребление экзогенного мелатонина в дозе 3 мг в течение 3 месяцев нормализовало уровень мелатонина до значений здоровых лиц, как в сыворотке крови, так и в слезной жидкости.

Полученные данные количественной оценки мелатонина в различных биологических жидкостях, с одной стороны, подтверждают уже имеющиеся исследования, а именно – снижение уровня сывороточного мелатонина у пациентов с ВМД [133], в то время как с другой стороны, в данном исследовании впервые была выявлена аналогичная тенденция и с концентрацией мелатонина в слезной жидкости, что является принципиально новым показателем, который ранее в литературе не был зарегистрирован. Глаз является забарьерным органом, который участвует в управлении продукции эпифизарного мелатонина и является экстрапинеальным источником мелатонина. Возможно, определение мелатонина в слезной жидкости является новым маркером для локального определения содержания мелатонина в глазу при различных офтальмопатологических состояниях.

Следующий этап клинической части состоял в определении и сравнительном анализе концентраций мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости, провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 в слезной жидкости, проведении клинико-морфометрических исследований у пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД в различные сроки после проведения факоэмульсификации катаракты. На данном этапе в



исследовании участвовали пациенты основной (прием мелатонина в течение 3 месяцев перед хирургией катаракты) и контрольной групп.

По данным научной литературы, хирургическое лечение катаракты относится к возможным факторам риска, способным привести к прогрессированию развития ВМД и связывают это, как с ролью цитокинов в патогенезе ВМД, так с происходящим при проведении операции выбросом различных классов медиаторов воспаления, включая цитокины, и возможным последующим повреждением гематофтальмического барьера [76, 114]. Установлено, что непосредственно перед операцией, на 3-5-й день и через 1 месяц после операции уровень мелатонина в сыворотке крови у пациентов основной группы (0,114 нг/мл) после 3 месяцев приема мелатонина статистически значимо выше, чем в контрольной (0,089 нг/мл).

Перед операцией уровень мелатонина в слезной жидкости пациентов основной группы после приема экзогенного мелатонина в течение 3 месяцев (0,324 нг/мл) статистически значимо выше в 2,5 раза, чем в контрольной группе. На 3-5-й день после операции уровень мелатонина в слезной жидкости в контрольной группе (0,277 нг/мл) увеличился, однако все равно был достоверно ниже на 21,5%, чем уровень мелатонина в основной группе (0,353 нг/мл) ( $p < 0,05$ ). Через 1 месяц после операции статистически значимых различий в группах не выявлено. Аналогичная тенденция к увеличению концентрации мелатонина в слюне и его метаболита б-сульфатоксимелатонина в моче была замечена Tomo Nishi, Keigo Saeki, Kimie Miyata с соавторами в 2020 году в рандомизированном клиническом исследовании влияния хирургии катаракты на секрецию мелатонина у взрослых в возрасте 60 лет и старше. Можно предположить, что повышение концентрации мелатонина в слезной жидкости после факоэмульсификации возрастной катаракты свидетельствует о возможном повышении его продукции в ответ на хирургическое лечение и направлено на снижение активности местного воспалительного процесса, что находит свое подтверждение в литературе [181].

Мелатонинсодержащая терапия в течение трех месяцев перед операцией в данном исследовании также способствовала снижению концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-8 (34,7 пг/мл) и ИЛ-1 $\beta$  (1,9 пг/мл) перед факоэмульсификацией возрастной катаракты, по сравнению с контрольной ИЛ-8 (55,9 пг/мл) и ИЛ-1 $\beta$  (4,4 пг/мл). В ряде исследований показано, что мелатонин участвует в регуляции иммунного реагирования, подавляет экспрессию ряда провоспалительных цитокинов [4, 61, 95]. Наиболее высокие отрицательные коэффициенты корреляции наблюдались у пациентов до операции в основной и контрольной группах. Отрицательная связь свидетельствовала о том, что чем выше уровень мелатонина в слезной жидкости, тем ниже уровень интерлейкинов. На 3-5-й день (3 визит) после операции уровень цитокинов повышался в ответ на хирургическое вмешательство, однако в контрольной группе концентрация ИЛ-8 (65,2 пг/мл) и ИЛ-1 $\beta$  (4,1 пг/мл) была статистически значимо выше на 23,4% ( $p < 0,05$ ), по сравнению с основной (ИЛ-8 - 49,9 пг/мл и ИЛ-1 $\beta$  3,2 пг/мл). Через 1 месяц после операции показатели уровня цитокинов и мелатонина снижались.

Мультимодальный подход в диагностике ВМД помогает установить стадию заболевания и наблюдать в динамике за ее течением. Морфо-функциональная характеристика исследуемых пациентов оценивалась с помощью методов визометрии, исследования аутофлуоресценции, микропериметрии, оптической когерентной томографии ОКТ, ультразвуковой биомикроскопии (УБМ). Результаты исследования оценивались в динамике, срок наблюдения – 6 месяцев. У пациентов исследуемых групп исходная МКОЗ (0,35) не отличалась (до операции), после факоэмульсификации возрастной катаракты медиана максимально скорректированной остроты зрения (0,8-8,85) статистически значимо увеличилась у пациентов в обеих группах. Не было установлено статистически значимых различий между основной и контрольной группами. Тем не менее, показатели МКОЗ в основной группе у пациентов с категорией

AREDS 3 на фоне приема экзогенного мелатонина выше по сравнению с контрольной.

При проведении микропериметрии оценивалась средняя яркостная чувствительность, стабильность фиксации. Установлено статистически значимое увеличение медианы средней яркостной чувствительности ( $p < 0,05$ ) у пациентов категории AREDS 2 (от 23,2 дБ исходно до 27,3 дБ через 1 месяц; 27,8 дБ через 3 месяца после ФЭК + ИОЛ) и AREDS 3 (от 21,9 дБ исходно до 24,3 дБ через 1 месяц ; 25,3 дБ -через 3 месяца ) основной группы по сравнению с контрольной ( AREDS 2 от 23,4 дБ исходно до 24,7 дБ через 1 месяц; 24,5 дБ через 3 месяца после ФЭК + ИОЛ) и AREDS 3 от 19,8 дБ исходно до 20,6 дБ через 1 месяц ; 21,7 дБ -через 3 месяца ). Отмечалась тенденция к увеличению средней яркостной чувствительности и P1 на протяжении 6 месяцев после хирургического вмешательства во всех группах, однако в основной группе на фоне приема экзогенного мелатонина эти показатели выше по сравнению с контрольной. При этом зарегистрировано, что показатели медианы средней яркостной чувствительности приблизились к нормальным значениям у пациентов основной группы категории AREDS 2 и AREDS 3, а также у пациентов контрольной группы категории AREDS 2, тогда как у пациентов контрольной группы категории AREDS 3 значения сохранялись в диапазоне пограничного состояния. Учитывая полученную закономерность изменений показателей средней яркостной чувствительности, которая оценивает функциональное состояние макулярной области, при этом острота зрения остается достоверно высокой в обеих группах весь послеоперационный период наблюдения, подтверждается вывод, что микропериметрия служит основным методом оценки динамики терапии при неэкссудативной форме ВМД в отличие от визометрии [69].

Послеоперационная реакция цилиарного тела, характеризующаяся по УБМ увеличением его толщины и снижением акустической плотности, проявлялась следующим образом: толщина цилиарного тела через 10-14 дней после факоэмульсификации возрастной катаракты увеличивалась в обеих

группах: в основной группе (от 0,75мм исходно до 0,82-0,84 мм) на 12%, в контрольной (от 0,76 мм исходно до 0,89-0,91 мм) – на 17,1%. Это статистически значимо выше исходных показателей как внутри каждой группы, так и в сравнении между обеими группами ( $p < 0,05$ ). К концу 1-го месяца и в остальные сроки наблюдения (3, 6 месяцев) значения возвращались к исходным данным. Аналогичная закономерность прослеживается с акустической плотностью цилиарного тела. Выявлено снижение до 30,87% в контрольной группе и до 26,17% – в основной на 10- 14-й день после операции, при этом статистических различий между группами не выявлено.

При приеме экзогенного мелатонина отмечались различия в показателях центральной толщины сетчатки. Через 14 дней и 1 месяц после факоэмульсификации катаракты в основной группе толщина центральной зоны сетчатки (AREDS 2 – 278 мкм исходно; 284 мкм – через 14 дней; 278 мкм – через 1 месяц; AREDS 3 – 281 исходно; 289 мкм – через 14 дней; 288 мкм – через 1 месяц) статистически значимо ниже по сравнению с контрольной (AREDS 2 – 283 мкм исходно; 296 и 293 мкм соответственно; AREDS 3 – 300 исходно; 307 и 329 мкм соответственно) ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  через 14 дней и 1 месяц после операции). В основной группе показатели ЦТС снижаются в динамике и к 6 месяцам возвращаются к исходным значениям, тогда как аналогичные данные в контрольной группе имеют тенденцию к статистически значимому увеличению весь послеоперационный период наблюдения ( $p < 0,05$ ).

Полученные с использованием методов функциональной диагностики показатели центральной толщины сетчатки, объема куба, толщины базиса цилиарного тела и акустической плотности свидетельствуют, что при приеме мелатонина в течение 3 месяцев пациентами основной группы с начальной и промежуточной стадиями ВМД выраженность воспалительной реакции после неосложненной хирургии катаракты ниже по сравнению с контрольной. Результаты микропериметрии свидетельствуют о

стабилизирующем влиянии мелатонинсодержащей терапии на функциональные свойства сетчатки [61, 210, 212].

Полученные результаты клинико-экспериментальных исследований позволили разработать алгоритм назначения мелатонинсодержащей терапии перед факоэмульсификацией катаракты пациентам с ранней и промежуточной стадиями ВМД.

Таким образом, в экспериментальной модели, основанной на комплексном лазер-индуцированном воздействии и фототоксическом повреждении сетчатки у кроликов породы шиншилла, выявлено противовоспалительное и антиапоптотическое действие мелатонина. Вышеперечисленные изменения позволяют подтвердить положительные свойства резистентной адаптации гормона мелатонин на структуры сетчатки, что может иметь существенное значение как основа адаптации к старению сетчатки. Это в свою очередь указывает на важную роль мелатонина в реализации и оптимизации фаз воспаления в субретинальном пространстве. Полученные сведения можно рассматривать в патогенетическом аспекте, включая уточнение механизмов дисфункции хориокапиллярного слоя.

На основе проведенного исследования были разработаны критерии ранней диагностики и прогнозирования течения ВМД группы высокого риска катаракты, в скрининговый опросник для выявления факторов риска прогрессирования ВМД включены дополнительные вопросы о бессоннице и работе в ночные смены в течение жизни. Возрастное снижение мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости является важным фактором дисфункции сетчатки, который в совокупности с такими факторами, как избыточная масса тела, артериальная гипертония, светлый цвет глаз, наличие бессонницы и ночных смен может быть основной причиной развития ВМД. Выявленные факторы риска позволят в дальнейшем скорректировать образ жизни пациентов, чтобы снизить риск развития или прогрессирования ВМД. Было доказано влияние приема экзогенного мелатонина на его концентрацию в исследуемых биологических жидкостях, показаны характерные локальные

сдвиги в цитокиновом и мелатониновом статусах, связанные с фактоэмульсификацией возрастной катаракты, а также противовоспалительный и стабилизирующий эффекты в послеоперационном периоде.

На основании полученных данных разработан алгоритм назначения мелатонинсодержащей терапии перед хирургией катаракты пациентам с ранней и промежуточной стадиями ВМД. Результаты проведенной мультимодальной диагностики в отдаленные сроки наблюдения подтвердили эффективность разработанного алгоритма, продемонстрировав стойкое улучшение состояния структур сетчатки и снижение риска прогрессирования ВМД.

## ВЫВОДЫ

1. В эксперименте *in vivo* установлено противовоспалительное и антиапоптотическое действие мелатонина, выражающееся в ограничении количества погибающих фоторецепторных и мюллеровых клеток и повышении уровня антиапоптотического белка bcl-2 в клетках микроглии и слоя оптикоганглионаров при моделировании фототоксической дегенерации сетчатки.

2. Сравнительный анализ содержания мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с различной степенью плотности катаракты и стадиями возрастной макулярной дегенерации показал ассоциированность низких показателей мелатонина в исследуемых средах с прогностически неблагоприятными факторами риска развития возрастной макулярной дегенерации ( $p < 0,05$ ). Установлена обратная корреляционная связь установлена между уровнем мелатонина и факторами риска: возраст, бессонница, индекс массы тела, наличие артериальной гипертонии, работа в ночные смены в течение жизни более 10 лет; прямая связь – с фактором риска цвет радужной оболочки.

3. Определена концентрация мелатонина в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с возрастной катарактой и с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации: уровень мелатонина в слезной жидкости был значительно выше, чем в сыворотке крови. Проведенный сравнительный анализ назначения мелатонина в дозе 3 мг на ночь в течение 3 месяцев перед фактоэмульсификацией возрастной катаракты показал наличие статистически значимых высоких концентраций мелатонина в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ) и слезной жидкости ( $p < 0,01$ ) в течение всего послеоперационного периода наблюдения по сравнению с пациентами, не принимавшими мелатонин.

4. Доказано снижение концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с ранней и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации перед проведением фактоэмульсификации катаракты ( $p < 0,01$ ). Назначение мелатонинсодержащей терапии показало незначительное

повышение концентрации интерлейкинов в раннем послеоперационном периоде по сравнению с пациентами, не принимавшими мелатонин ( $p < 0,05$ ). Установлена отрицательная корреляционная связь между уровнем мелатонина в слезной жидкости и концентрацией интерлейкинов.

5. Разработанный алгоритм медицинской технологии, заключающийся в назначении мелатонинсодержащей терапии перед фактоэмульсификацией катаракты у пациентов с начальной и промежуточной стадиями возрастной макулярной дегенерации, позволяет получить снижение воспалительной реакции после операции и доказывает стабилизирующее влияние гормона мелатонин на функциональные показатели сетчатки (толщина базиса цилиарного тела, центральная толщина сетчатки, средняя яркостная чувствительность).



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На основе клинико-иммунологических исследований определены дополнительные критерии факторов риска развития ВМД (бессонница и работа в ночные смены в анамнезе), которые целесообразно включить в скрининговый опросник риска прогрессирования ВМД.

2. Назначение мелатонина 3 мг за 3 месяца до фактоэмульсификации катаракты пациентам с начальной и промежуточной стадиями ВМД можно рекомендовать в качестве предоперационной подготовки с противовоспалительной и антиоксидантной целью. Проведенные исследования позволили разработать алгоритм медицинской технологии назначения мелатонинсодержащей терапии вышеуказанной категории пациентов, заключающийся в проведении мультимодальной диагностики, анкетирования, назначения мелатонина по схеме, постоперационного наблюдения.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- AREDS – исследование по возрастным заболеваниям глаз
- VEGF – фактор роста эндотелия сосудов
- АП – акустическая плотность
- АФ – аутофлуоресценция
- ВМД – возрастная макулярная дегенерация
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ВПМ – внутренняя пограничная мембрана
- ДЗН – диск зрительного нерва
- ИГХ – иммуногистохимия
- ИЛ-1 $\beta$  – интерлейкин-1 бета
- ИЛ-8 – интерлейкин-8
- ИОЛ – интраокулярная линза
- ИФА – иммуноферментный анализ
- МКОЗ – максимально коррегированная острота зрения
- MT1 – мелатониновый рецептор 1
- MT2 – мелатониновый рецептор 2
- MT3 – мелатониновый рецептор 3
- нВМД – неоваскулярная форма ВМД
- ОКТ – оптическая когерентная томография
- РПЭ – ретинальный пигментный эпителий
- СЖ – слезная жидкость
- СК – сыворотка крови
- УБМ – ультразвуковая биомикроскопия
- ФЭК – факоэмульсификация катаракты
- ХНВ – хориоидальная неоваскуляризация
- ЦТС – центральная толщина сетчатки

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Агарков, А. А.** Активность глутатионовой антиоксидантной системы и НАДФН–генерирующих ферментов в сыворотке крови крыс при сахарном диабете 2-го типа и воздействии препаратов, корригирующих уровень мелатонина / А. А. Агарков, Т. Н. Попова, А. Н. Веревкин, Л. В. Матасова. – Текст: непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 2. – С. 158-162.
2. **Агарков, А. А.** Оценка степени фрагментации ДНК, активности аконитатгидратазы и уровня цитрата при сахарном диабете 2 типа у крыс и введении мелатонина / А. А. Агарков, Т. Н. Попова, Л. В. Матасова [и др.]. Текст: непосредственный // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2012. – № 3. – С. 21-26.
3. **Айламазян, Э. К.** Роль мелатонина в развитии гестационного сахарного диабета / Э. К. Айламазян, И. И. Евсюкова, М. И. Ярмолинская. – Текст: непосредственный // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т. 67, № 1. – С. 85-91.
4. **Арушанян, Э. Б.** Значение мелатонина для физиологии и патологии глаза / Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов. – Текст: непосредственный // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 126- 133.
5. **Арушунян, Э. Б.** Противовоспалительные возможности мелатонина / Э. Б. Арушунян, С. С. Наумов. – Текст: непосредственный // Клиническая медицина. – 2013. – № 7. – С. 18-22.
6. **Астахов, Ю. С.** Сравнительный анализ течения влажной формы возрастной макулярной дегенерации в глазах с начальной катарактой и в глазах, перенесших факоэмульсификацию / Ю. С. Астахов, Н. Ю. Даль, Н. В. Чистякова. – Текст: непосредственный // Офтальмологические ведомости. – 2014. – Т. 7, № 4. – С. 27-32.

7. **Астахов, Ю. С.** Оценка частоты хирургии катаракты в анамнезе у пациентов с «влажной» формой возрастной макулярной дегенерации, получающих ингибиторы ангиогенеза / Ю. С. Астахов, Н. В. Чистякова, Н. Ю. Даль, Г. Б. Шаар. – Текст: непосредственный // Офтальмологические ведомости. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 5-10.

8. **Белехова, С. Г.** Роль генетически детерминированных факторов в патогенезе возрастной макулярной дегенерации / С. Г. Белехова, Ю. С. Астахов. – Текст: непосредственный // Офтальмологические ведомости. – 2015. – Т. 8, № 4. – С. 30-39.

9. **Белый, Ю. А.** Фотодинамическая терапия лазер-индуцированной хориоидальной неоваскуляризации с препаратом "Фотодитазин" в эксперименте / Ю. А. Белый, А. В. Терещенко, П. Л. Володин, М. А. Каплан, А. Д. Семенов, Г.В. Пономарев, Р.Ф. Баум. – Текст: непосредственный // Отечественные противоопухолевые препараты : материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. – Москва : 2005. – С. 14- 15.

10. **Белый, Ю. А.** Изучение фотодинамического воздействия на хориоидальную неоваскуляризацию в эксперименте / Ю. А. Белый, П. Л. Володин, А. Д. Семенов. – Текст: непосредственный // Федоровские чтения. – Москва : 2007. – С. 235-236.

11. **Бикбов, М. М.** Макулярная дегенерация сетчатки в эксперименте / М. М. Бикбов, Р. Р. Файзрахманов, А. Л. Ярмухаметова, Р. М. Бикбулатов. – Текст: непосредственный // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. – Т. 122, № 4. – С. 53-56.

12. **Галкин, И. И.** Митохондриально-направленные антиоксиданты предотвращают апоптоз эндотелиальных клеток, вызванный фактором некроза опухоли / И. И. Галкин, О. Ю. Плетюшкина, Р. А. Зиновкин [и др.]. Текст: непосредственный // Биохимия. – 2014. – Т. 79, № 2. – С. 124-130.

13. **Гветадзе, А. А.** Рациональные подходы к ведению больных с «сухой» формой возрастной макулярной дегенерации / А. А. Гветадзе, Е. П.

Виноградова, Е. А. Егоров. – Текст: непосредственный // Клиническая офтальмология. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 34-37.

14. **ГОСТ 33044-2014.** Принципы надлежащей лабораторной практики = Principles of good laboratory practice : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. N 1700-ст : введен впервые : дата введения 01.08.2015 / подготовлен Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ" (ФГУП "ВНИЦСМВ"). – Москва : Стандартинформ, 2015, 2019. – IV, 12 с. – Текст: непосредственный.

15. **Деев, Р. В.** Современные представления о клеточной гибели / Р. В. Деев, А. И. Билялов, Т. М. Жампеисов. – Текст: непосредственный // Гены и Клетки. – 2018. – Т. 13, № 1. – С. 6-19.

16. **Директива 2010\63\EU** Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых для научных целей / перевод с английского М. С. Красильщиковой, И. В. Белозерцовой. Все права на русскоязычный перевод принадлежат НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными» – Санкт-Петербург. – 2012. – 50 с. – Текст: непосредственный.

17. **Еричев, В. П.** Роль цитокинов в патогенезе глазных болезней / В. П. Еричев, С. Ю. Петров, А. М. Суббот [и др.]. Текст: непосредственный // Национальный журнал глаукома. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 87-101.

18. **Ермилов, В. В.** Корреляции метаболических нарушений в структурах глаза со старением, апоптозом и зависимыми от возраста заболеваниями / В. В. Ермилов, О. В. Махонина. – Текст: непосредственный // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2011. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.

19. **Зак, П. П.** Экспериментальная модель ускоренного старения сетчатки: японский перепел *coturnix japonica* / П. П. Зак, А. В. Зыкова, Н. Н. Трофимова [и др.]. – Текст: непосредственный // Сенсорные системы. – 2012. – Т. 26, № 1. – С. 3-10.

20. **Иванишко, Ю. А.** Возрастные поражения макулы. «Естественное» течение, попытка классификации, возможности превентивного лечения / Ю. А. Иванишко, М. А. Лотошников, Е. А. Зарезина. – Текст: непосредственный // Макула. Всероссийский семинар – «круглый стол». – Ростов-на-Дону. – 2006 – С. 107-117.

21. **Иммуногистохимические методы: руководство** / George L. Kumar, Lars Rudbeck : ДАКО; перевод с английского под редакцией Г. А. Франка, П. Г. Малькова. – Москва : Издательско-Полиграфическое объединение «У Никитских ворот», 2011. – 224 с. – 1000 экз. – ISBN: 978-5-91366-295-8. – Текст: непосредственный.

22. **Исмаилова, С. К.** Современное состояние проблемы возрастной макулодистрофии (обзор литературы) / С. К. Исмаилова, А. В. Балмуханова. – Текст: непосредственный // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2018. – № 4. – С. 26-32.

23. **Каладзе, Н. Н.** Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина / Н. Н.Каладзе, Е. М. Соболева, Н. Н. Скоромная. – Текст: непосредственный // Теоретична медицина. – 2010. – Т. 23, № 2. – С. 156-166.

24. **Кацнельсон, Л. А.** Центральные инволюционные дистрофии: методические рекомендации / Л. А. Кацнельсон, Е. И. Форфонова, Е. Б. Аникина [и др.] – Текст: непосредственный. – М.: Медицина, 1990. – 14 с.

25. **Кошелев, Д. И.** Влияние витальных красителей для заднего сегмента глаза на электроретинограмму кроликов / Д.И. Кошелев, Б.М. Азнабаев, Р.Р. Ахмадеев [и др.] – Текст: непосредственный // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 114-118.

26. **Куроедов, А. В.** Оптическая когерентная томография: технология, ставшая реальностью / А.В. Куроедов, М.А. Захарова. – Текст: непосредственный // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2015. – Т. 15, № 4. – С. 204-211.

27. **Лискова, Ю. В.** Влияние мелатонина на регенераторный потенциал миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности / Ю. В. Лискова, А. А. Стадников, С. П. Саликова – Текст: непосредственный // Вопросы морфологии XXI века. – 2018. – № 5. – С. 173-176.

28. **Медведева, Л. М.** Некоторые аспекты патогенеза и лечения возрастной макулярной дегенерации / Л. М. Медведева. – Текст: непосредственный // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2021. – Т. 20, № 5. – С. 7-14.

29. **Мендель, В. Э.** Мелатонин: роль в организме и терапевтические возможности: Опыт применения препарата Мелаксен в российской медицинской практике / В. Э. Мендель, О. И. Мендель. – Текст: непосредственный // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 6. – С. 336.

30. **Милюткина, С. О.** Функциональные нарушения макулярной области сетчатки как фактор развития социально-психологической дезадаптации у больных возрастной макулярной дегенерацией / С. О. Милюткина, М. А. Ковалевская // Прикладные информационные аспекты медицины: научно-практический журнал. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 128-136.

31. **Милюшина, Л. А.** Экспериментальные модели дегенеративно-дистрофических заболеваний сетчатки человека: индуцированные модели / Л. А. Милюшина, А. В. Кузнецова, М. А. Александрова // Вестник Офтальмологии. – 2013. – Т. 129, № 3. – С. 94-97.

32. **Мунц И. В.** Распространенность офтальмологических заболеваний в популяционной выборке старше 50 лет / И. В. Мунц, А. О. Диреев, О. Г. Гусаревич, Л. В. Щербакова, Е. В. Маздорова, С. К. Малютина. – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136, № 3. – С. 106-115.

33. **Назарян, М. Г.** Современные аспекты инвалидности вследствие патологии органа зрения / М. Г. Назарян, П. М. Арбуханова. – Текст: непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 2. – С. 224-226.

34. **Патент № 2364382** Российская Федерация, МПК А61F 9/00 (2006.01); С12N 5/08 (2006.01); А61P 27/02 (2006.01). Способ повышения функциональной активности сетчатки при ее патологии различного генеза : 2008121546 : заявл. 29.05.2008 : опубл. 20.08.2009 / А. В. Ревещин, М. В. Зуева, И. В. Цапенко [и др.]. – 6 ил. – Текст: непосредственный.

35. **Патент № 2480844** Российская Федерация, МПК G09B 23/28 (2006.01). Способ моделирования возрастной макулярной дегенерации : 2011152708 : заявл. 22.12.2011 : опубл. 27.04.2013 / Бикбов М. М., Файзрахманов Р. Р., Ярмухаметова А. Л. [и др.]. – 6 с. : ил. – Текст: непосредственный.

36. **Петров, С. В.** Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань : DESIGNstudio "RED", 2012. – 624 с. – ISBN: 978-5-85247-559-6. – Текст: непосредственный.

37. **Симбирцев, А. С.** Цитокины в лабораторной диагностике / А. С. Симбирцев, А. А. Тотолян. – Текст: непосредственный // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2015. – № 2. – С. 82-98.

38. **Тахчиди, Х. П.** Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии переднего сегмента глаза / Х. П. Тахчиди, Э. В. Егорова, Д. Г. Узунян. – Москва : ФГУ МНТК "Микрохирургия глаза", 2007. - 126 с. : ил., табл., цв. ил.; 27 см. - (Золотая серия). – ISBN 978-5-903624-02-7 2007. – Текст: непосредственный.

39. **Тлекова, Р. С.** Уровень апоптоза в супрахиазматическом ядре на разных этапах онтогенеза у мышей линии BALB/C в эксперименте / Р. С. Тлекова, Ю. В. Азизова. – Текст: непосредственный // Естественные науки. – 2013. – Т. 44, № 3. – С. 100-106.



40. **Федотова, Т. С.** Патогенетические аспекты возрастной макулярной дегенерации сетчатки / Т. С. Федотова, В. М. Хокканен, С. В. Трофимова. – Текст: непосредственный // Вестник ОГУ. – 2014. – Т. 173, № 12. – С. 325-330.
41. **Чеснокова, Н. Б.** Влияние инстилляций мелатонина и дексаметазона на клиническое течение увеита и биохимические процессы во влаге передней камеры (экспериментальное исследование) / Н. Б. Чеснокова, О. В. Безнос, Г. А. Бейшенова. – Текст: непосредственный // Российская педиатрическая офтальмология. – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 29-34.
42. **Шацких А. В.** Клинико-морфологическое исследование влияния суспензии «Витреоконтраст» на ткани глаза кроликов / А. В. Шацких, Н. М. Кислицына, С. В. Новиков [и др.] – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2011. – № 4. – С. 59-64.
43. **Abokyi, S.** Central role of oxidative stress in age-related macular degeneration: evidence from a review of the molecular mechanisms and animal models / S. Abokyi, C. H. To, T. T. Lam, D. Y. Tse // Oxid Med Cell Longev. – 2020. – 7901270. – doi: 10.1155/2020/7901270.
44. **Ahmadi, Z.** Melatonin as a potential modulator of Nrf2 / Z. Ahmadi, M. Ashrafizadeh // Fundam Clin Pharmacol. – 2020. – Vol. 34, No. 1. – P. 11-19. – doi: 10.1111/fcp.12498.
45. **Alkozi, H. A.** Presence of melanopsin in human crystalline lens epithelial cells and its role in melatonin synthesis / H. A. Alkozi, X. Wang, M. J. Perez de Lara [et al.] // Experimental Eye Research. – 2017. – Vol. 154. – P. 168-176. – doi: 10.1016/j.exer.2016.11.019.
46. **Al-Zamil, W.M.** Recent developments in age-related macular degeneration: a review / W. M. Al-Zamil, S. A. Yassin // Clin Interv Aging. – 2017. – Vol.12. – P. 1313-1330. – doi: 10.2147/CIA.S143508.
47. **Aranda, M. L.** Melatonin as a therapeutic resource for inflammatory visual diseases // M. L. Aranda, M. F. G. Fleitas, H. Dieguez [et al.] // Curr

Neuropharmacol. – 2017. – Vol. 15, No. 7. – P. 951-962. – doi: 10.2174/1570159X15666170113122120.

48. **Babizhayev, M. A.** Telomere-dependent senescent phenotype of lens epithelial cells as a biological marker of aging and cataractogenesis: the role of oxidative stress intensity and specific mechanism of phospholipid hydroperoxide toxicity in lens and aqueous / M. A. Babizhayev, K. S. Vishnyakova, Y. E. Yegorov // *Fundamental & Clinical Pharmacology*. – 2011. – Vol. 25, No. 2. – P. 139-162. – doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00829.x.

49. **Babizhayev, M. A.** Reactive oxygen species and the aging eye: specific role of metabolically active mitochondria in maintaining lens function and in the initiation of the oxidation-induced maturity onset cataract – A novel platform of mitochondria-targeted antioxidants with broad therapeutic potential for redox regulation and detoxification of oxidants in eye diseases / M. A. Babizhayev, Y. E. Yegorov // *Am J Ther*. – 2016. – Vol. 23, No. 1. – P. 98-117. – doi: 10.1097/MJT.0b013e3181ea31ff.

50. **Babizhayev, M. A.** Mitochondria induce oxidative stress, generation of reactive oxygen species and redox state unbalance of the eye lens leading to human cataract formation: disruption of redox lens organization by phospholipid hydroperoxides as a common basis for cataract disease / M. A. Babizhayev // *Cell Biochem Funct*. – 2011. – Vol. 29, No. 3. – P. 183-206. – doi: 10.1002/cbf.1737.

51. **Bai, J.** The role of melatonin as an antioxidant in human lens epithelial cells / J. Bai, L. Dong, Z. Song [et al.] // *Free Radical Research*. – 2013. – Vol. 47, No. 8. – P. 635-642. – doi: 10.3109/10715762.2013.808743.

52. **Bantounou, M.** Melatonin and related compounds: antioxidant and anti-inflammatory actions / M. Bantounou, J. Plascovic, H. F. Galley // *Antioxidants*. – Vol. 11, No. 3. – P. 532. – doi: 10.3390/antiox11030532.

53. **Bardak, Y.** Effect of melatonin against oxidative stress in ultraviolet-B exposed rat lens / Y. Bardak, Y. Ozertürk, F. Ozgüner [et al.] // *Curr Eye Res*. – 2000. – Vol. 20, No. 3. – P. 225-230. – doi: 10.1076/0271-3683(200003)2031-9FT225.

54. **Bazyar, H.** The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial / H. Bazyar, H. Gholinezhad, L. Moradi [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2019. – Vol. 27, No. 1. – P. 67-76. – doi: 10.1007/s10787-018-0539-0.
55. **Beebe, D. C.** Oxidative damage and the prevention of age-related cataracts / D. C. Beebe, N. M. Holekamp, Y. B. Shui // *Ophthalmic Res*. – 2010. – Vol. 44, No. 3. – P. 155-165. – doi: 10.1159/000316481.
56. **Besharse, J. C.** The retina and other light-sensitive ocular clocks / J. C. Besharse, D.G. McMahon // *J Biol Rhythms*. – 2016. – Vol. 31, No. 3. – P. 223-243. – doi: 10.1177/0748730416642657.
57. **Betti, L.** Hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) activity in the retina of melatonin-proficient mice / L. Betti, L. Palego, G. C. Demontis [et al.] // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5, No. 9. – e02417. – doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02417.
58. **Biggio, G.** Melatonin: From Neurobiology to Treatment / G. Biggio, F. Biggio, G. Talani [et al.] // *Brain Sci*. – 2021. – Vol. 11, No 9. – P. 1121. – doi: 10.3390/brainsci11091121.
59. **Bindewald, A.** Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease / A. Bindewald, A. C. Bird, S. S. Dandekar [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2005. – Vol. 46, No. 9. – P. 3309-3314. – doi: 10.1167/iovs.04-0430.
60. **Bird, A. C.** An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration / A. C. Bird, N. M. Bressler, S. B. Bressler [et al.] // *Surv Ophthalmol*. – 1995. – No. 39. – P. 367- 374. – doi: 10.1016/s0039-6257(05)80092-x.
61. **Blasiak, J.** Melatonin in retinal physiology and pathology: the case of age-related macular degeneration / J. Blasiak, R. J. Reiter, K. Kaarniranta // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2016. – Vol. 2016. – ID 6819736. – doi: 10.1155/2016/6819736.

62. **Bovier, E. R.** The relationship between lutein and zeaxanthin status and body fat / E. R. Bovier, R. D. Lewis, B. R. Hammond Jr. // *Nutrients*. – 2013. – Vol. 5, No. 3. – P. 750-757. – doi: 10.3390/nu5030750.
63. **Burgess, S.** Mendelian randomization implicates high-density lipoprotein cholesterol-associated mechanisms in etiology of age-related macular degeneration / S. Burgess, G. D. Smith // *Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 124, No. 8. – P. 1165-1174. – doi: 10.1016/j.ophtha.2017.03.042.
64. **Calderon, G. D.** Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment / G. D. Calderon, O. H. Juarez, G. E. Hernandez [et al.] // *Eye (Lond)*. – 2017. – Vol. 31, No. 8. – P. 1122-1130. – doi: 10.1038/eye.2017.64.
65. **Călin, E. F.** Lipofuscin: a key compound in ophthalmic practice / E. F. Călin, S. I. Patoni Popescu, C. C. Coman Cernat [et al.] // *Rom J Ophthalmol*. – 2021. – Vol. 65, No. 2. – P. 109-113. – doi: 10.22336/rjo.2021.23.
66. **Carracedo, G.** Presence of melatonin in human tears / G. Carracedo, C. Carpena, P. Concepción [et al.] // *Journal of Optometry*. – 2017. – Vol. 10, No. 1. – P. 3-4. – doi: 10.1016/j.optom.2016.03.002.
67. **Carreno, E.** Cytokine and chemokine levels in tears from healthy subjects / E. Carreno, A. Enríquez-de-Salamanca, M. Tesón [et al.] // *Acta Ophthalmology*. – 2010. – Vol. 88, No. 7. – P. 250-258. – doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.01978.x.
68. **Casparis, H.** Surgery for cataracts in people with age-related macular degeneration / H. Casparis, K. Lindsley, I. C. Kuo [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2017. – Vol., No. 6. – CD006757. – doi: 10.1002/14651858.CD006757.pub4.
69. **Cassels, N.K.** The use of microperimetry in assessing visual function in age-related macular degeneration / N. K. Cassels, J. M. Wild, T. H. Margrain [et al.] // *Survey of Ophthalmology*. – 2018. – Vol. 63, No. 1. – P. 40-55. – doi: 10.1016/j.survophthal.2017.05.007.

70. **Chakravarthy, U.** Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis / U. Chakravarthy, T. Y. Wong, A. Fletcher [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 31. – doi: 10.1186/1471-2415-10-31.
71. **Chang, C. C.** Protective effect of melatonin against oxidative stress-induced apoptosis and enhanced autophagy in human retinal pigment epithelium cells / C. C. Chang, T. Y. Huang, H. Y. Chen [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2018. – 9015765. – doi: 10.1155/2018/9015765.
72. **Chen, M.** Retinal pigment epithelial cell multinucleation in the aging eye - a mechanism to repair damage and maintain homeostasis / M. Chen, D. Rajapakse, M. Fraczek [et al.] // *Aging Cell.* – 2016. – Vol. 15, No. 3. – P. 436- 445. – doi: 10.1111/acel.12447.
73. **Chen, S.** Animal models of age-related macular degeneration and their translatability into the clinic / S. Chen, N. Popp, C. C. Chan // *Expert Review of Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 9, No. 4. – doi: 10.1586/17469899.2014.939171.
74. **Chhablani, J.** Fluorescein angiography and optical coherence tomography in myopic choroidal neovascularization / J. Chhablani, M. J. Deepa, M. Tyagi [et al.] // *Eye (Lond).* – 2015. – Vol. 29, No. 4. – P. 519-524. – doi: 10.1038/eye.2014.345.
75. **Chong, R. S.** Tear cytokine profile in medicated glaucoma patients: effect of monocyte chemoattractant protein 1 on early posttrabeculectomy outcome / R. S. Chong, Y. Z. Jiang, P. Y. Boey [et al.] // *Ophthalmology.* – 2010. – Vol. 117, No. 12. – P. 2353-2358. – doi: 10.1016/j.ophtha.2010.03.064.
76. **Chu, L.** Aqueous cytokines as predictors of macular edema in non-diabetic patients following uncomplicated phacoemulsification cataract surgery / L. Chu, B. Wang, B. Xu, N. Dong // *Molecular Vision.* – 2013. – Vol. 19. – P. 2418-2425.

77. **Claustrat, B.** Melatonin: physiological effects in humans / B. Claustrat, J. Leston // *Neurochirurgie*. – 2015. – Vol. 61. – No. 2-3. – P. 77-84. – doi: 10.1016/j.neuchi.2015.03.002.
78. **Coleman, D. J.** Age-related macular degeneration: choroidal ischaemia? / D. J. Coleman, R. H. Silverman, M. J. Rondeau [et al.] // *Br J Ophthalmol*. – 2013. – Vol. 97, No. 8. – P. 1020-1023. – doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303143.
79. **Costello, M. J.** Autophagy and mitophagy participate in ocular lens organelle degradation / M. J. Costello, L. A. Brennan, S. Basu [et al.] // *Experimental Eye Research*. – 2013. – Vol. 116. – P. 141-150. – doi: 10.1016/j.exer.2013.08.017.
80. **Crooke, A.** Ocular disorders and the utility of animal models in the discovery of melatonergic drugs with therapeutic potential / A. Crooke, F. Huete-Toral, A. Martínez-Águila [et al.] // *Expert Opin Drug Discov*. – 2012. – Vol. 7, No. 10. – P. 989-1001. – doi: 10.1517/17460441.2012.714769.
81. **Crooke, A.** The role and therapeutic potential of melatonin in age-related ocular diseases / A. Crooke, F. Huete-Toral, B. Colligris [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2017. – Vol. 63, No. 2. – P. 1-25. – doi: 10.1111/jpi.12430.
82. **da Costa, J. P.** A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects / J. P. da Costa, R. Vitorino, G. M. Silva [et al.] // *Ageing Res Rev*. – 2016. – Vol. 29. – P. 90-112. – doi: 10.1016/j.arr.2016.06.005.
83. **Davis, M. D.** The age-related eye disease study severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 17. / M. D. Davis, R. E. Gangnon, L. Y. Lee [et al.] // *Arch Ophthalmol*. – 2005. – Vol. 123, No. 11. – P. 1484-1498. – doi: 10.1001/archophth.123.11.1484.
84. **de Keizer, P. L.** p53: Pro-aging or pro-longevity? / P. L. de Keizer, R. M. Laberge, J. Campisi // *Aging (Albany NY)*. – 2010. – Vol. 2, No. 7. – P. 377-379. – doi: 10.18632/aging.100178.
85. **Del Sole, M. J.** Therapeutic benefit of melatonin in experimental feline uveitis / M. J. Del Sole, P. H. Sande, D. C. Fernandez [et al.] // *Journal of*

Pineal Research. – 2012. – Vol. 52, No. 1. – P. 29-37. – doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00913.x.

86. **Diéguez, H. H.** Melatonin protects the retina from experimental nonexudative age-related macular degeneration in mice / H. H. Diéguez, M. F. González Fleitas, M. L. Aranda [et al.] // J Pineal Res. – 2020. – Vol. 68, No. 4. – e12643. – doi: 10.1111/jpi.12643.

87. **Dobi, E. T.** A new model of experimental choroidal neovascularization in the rat / E. T. Dobi, C. A. Puliafito, M. Destro // Arch Ophthalmol. – 1989. – Vol. 107, No. 2. – P. 264-269. – doi: 10.1001/archophth.1989.01070010270035.

88. **Du, Z.** Oxidative damage induces MCP-1 secretion and macrophage aggregation in age-related macular degeneration (AMD) / Z. Du, X. Wu, M. Song [et al.] // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2016. – Vol. 254, No. 12. – P. 2469-2476. – doi: 10.1007/s00417-016-3508-6.

89. **Ebisawa, T.** Expression cloning of a high-affinity melatonin receptor from *Xenopus* dermal melanophores / T. Ebisawa, S. Karne, M. R. Lerner [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1994. – Vol. 91, No. 13. – P. 6133-6137. – doi: 10.1073/pnas.91.13.6133.

90. **Ehmann, D. S.** Cataract surgery and age-related macular degeneration / D. S. Ehmann, A. C. Ho // Curr Opin Ophthalmol. – 2017. – Vol. 28, No. 1. – P. 58-62. – doi: 10.1097/ICU.0000000000000331.

91. **Enriquez-de-Salamanca, A.** Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease / A. Enriquez-de-Salamanca, E. Castellanos, M. E. Stern [et al.] // Molecular Vision. – 2010. – Vol. 16. – P. 862-873.

92. **Escrevente, C.** Formation of lipofuscin-like autofluorescent granules in the retinal pigment epithelium requires lysosome dysfunction / C. Escrevente, A. S. Falcão, M. J. Hall [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2021. – Vol. 62, No. 9. – P. 39. – doi: 10.1167/iovs.62.9.39.

93. **Fahey, E.** IL-1 Family cytokine regulation of vascular permeability and angiogenesis / E. Fahey, S. L. Doyle // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1426. – doi: 10.3389/fimmu.2019.01426.
94. **Farajnia, S.** Evidence for neuronal desynchrony in the aged suprachiasmatic nucleus clock / S. Farajnia, S. Michel, T. Deboer [et al.] // *Journal of Neuroscience.* – 2012. – Vol. 32, No. 17. – P. 5891-5899. – doi: 10.1523/JNEUROSCI.0469-12.2012.
95. **Ferreira de Melo, I.M.** Melatonin regulates the expression of inflammatory cytokines, VEGF and apoptosis in diabetic retinopathy in rats / I.M. Ferreira de Melo, C.G. Martins Ferreira, E.H. Lima da Silva Souza [et al.] // *Chemico-Biological Interactions.* – 2020. – Vol. 327, No. 1. – P.109183. doi: 10.1016/j.cbi.2020.109183.
96. **Fernandez-Araque, A.** The antioxidants in the process of ocular pathology / A. Fernandez-Araque, A. G. Aranda, C. L. Pardo, A. R. Aragüés // *Nutr Hosp.* – 2017. – Vol. 34, No. 2. – P. 469-478. – doi: 10.20960/nh.420.
97. **Fischer, T.** The age-related macular degeneration as a vascular disease/part of systemic vasculopathy: contributions to its pathogenesis / T. Fischer // *Orvosi Hetilap.* – 2015. – Vol. 156, No. 9. – P. 358-365. – doi: 10.1556/OH.2015.30017.
98. **Franceschi, C.** The continuum of aging and age-related diseases: common mechanisms but different rates / C. Franceschi, P. Garagnani, C. Morsiani [et al.] // *Front Med (Lausanne).* – 2018. – Vol. 5. – P. 61. – doi: 10.3389/fmed.2018.00061.
99. **Frost, L. S.** Autophagy in the eye: implications for ocular cell health / L. S. Frost, C. H. Mitchell, K. Boesze-Battaglia // *Experimental Eye Research.* – 2014. – Vol. 124. – P. 56-66. – doi: 10.1016/j.exer.2014.04.010.
100. **Fu, Y.** Anti-apoptotic effects of melatonin in retinal pigment epithelial cells / Y. Fu, M. Tang, Y. Fan [et al.] // *Frontiers in Bioscience.* – 2012. – Vol. 17, No. 4. – P. 1461-1468. doi: 10.2741/3997. PMID: 22201814.



101. **Galano, A.** Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination / A. Galano, D. X. Tan, R. J. Reiter // *Journal of Pineal Research*. – 2011. – Vol. 51, No. 1. – P. 1-16. – doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00916.x.

102. **Galano, A.** On the freeradical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK / A. Galano, D. X. Tan, R. J. Reiter // *Journal of Pineal Research*. – 2013. – Vol. 54, No. 3. – P. 245-257. – doi: 10.1111/jpi.12010.

103. **Geiger, P.** Blue light-induced retinal lesions, intraretinal vascular leakage and edema formation in the all-cone mouse retina / P. Geiger, M. Barben, C. Grimm [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2015. – Vol. 6, No. 11. – P. e1985. – doi: 10.1038/cddis.2015.333

104. **Gheorghe, A.** Age-related macular degeneration / A. Gheorghe, L. Mahdi, O. Musat // *Romanian Journal of Ophthalmology*. – 2015. – Vol. 59, No. 2. – P. 74-77.

105. **Gianesini, C.** Cone viability is affected by disruption of melatonin receptors signaling / C. Gianesini, S. Hiragaki, V. Laurent [et al.] // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2016. – Vol. 57, No. 1. – P. 94-104. – doi: 10.1167/iovs.15-18235.

106. **Giménez, M.** Melatonin and sleep-wake rhythms before and after ocular lens replacement in elderly humans / M. Giménez, D. Beersma, S. Daan [et al.] // *Biology (Basel)*. – 2016. – Vol. 5, No. 1. – P. 12. – doi: 10.3390/biology5010012.

107. **Gonçalves, A.L.** Randomised clinical trial comparing melatonin 3 mg, amitriptyline 25 mg and placebo for migraine prevention / A. L. Gonçalves, A.M. Ferreira, R. T. Ribeiro [et al.] // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2016. – Vol. 87, No. 10. – P. 1127-1132. – doi: 10.1136/jnnp-2016-313458.

108. **Gorgels, T. G.** Ultraviolet and green light cause different types of damage in rat retina / T. G. Gorgels, D. van Norren // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 1995. – No. 36. – P. 851-863.

109. **Grace, M. S.** Melatonin deacetylation: retinal vertebrate class distribution and *Xenopus laevis* tissue distribution / M. S. Grace, G. M. Cahill, J. C. Besharse // *Brain Res.* – 1991. – Vol. 559, No. 1. – P. 56-63. – doi: 10.1016/0006-8993(91)90286-5.
110. **Grixti, A.** Phacoemulsification surgery in eyes with neovascular age-related macular degeneration / A. Grixti, E. Papavasileiou, D. Cortis [et al.] // *ISRN Ophthalmology.* – 2014. – 417603. – doi: 10.1155/2014/417603.
111. **Grossniklaus, H. E.** Animal models of choroidal and retinal neovascularization / H. E. Grossniklaus, S. J. Kang, L. Berglin // *Prog Retin Eye Res.* – 2010. – Vol. 29, No. 6. – P. 500-519. – doi: 10.1016/j.preteyeres.2010.05.003.
112. **Gudauskiene, G.** Phacoemulsification induced changes of choroidal thickness in eyes with age-related macular degeneration / G. Gudauskiene, I. Povilaitytė, E. Šepetauskienė, D. Žaliūnienė // *Medicina (Kaunas).* – 2020. – Vol. 56, No. 5. – P. 252. – doi: 10.3390/medicina56050252.
113. **Gürpınar, T.** The effects of the melatonin treatment on the oxidative stress and apoptosis in diabetic eye and brain / T. Gürpınar, N. Ekerbiçer, N. Uysal [et al.] // *Scientific World Journal.* – 2012. – Vol. 2012. – 498489. – doi: 10.1100/2012/498489.
114. **Guymer, R. H.** Identification of urinary biomarkers for age-related macular degeneration / R. H. Guymer, L. W. Tao, J. K. Goh [et al.] // *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* – 2011. – Vol. 52. – P. 4639-4644. – doi: 10.1167/iovs.10-7120.
115. **Haas, P.** Impact of visceral fat and pro-inflammatory factors on the pathogenesis of age-related macular degeneration / P. Haas, K. E. Kubista, W. Krugluger [et al.] // *Acta Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 93, No. 6. – P. 533–538. – doi: 10.1111/aos.12670.
116. **Hardeland, R.** Melatonin and the theories of aging: a critical appraisal of melatonin's role in antiaging mechanisms / R. Hardeland // *Journal of Pineal Research.* – 2013. – Vol. 55, No. 4. – P. 325-356. – doi: 10.1111/jpi.12090.

117. **Herranz, N.** Mechanisms and functions of cellular senescence / N. Herranz, J. Gil // *J Clin Invest.* – 2018. – Vol. 128, No. 4. – P. 1238-1246. – doi: 10.1172/JCI95148.

118. **Hernandez-Zimbron, L.F.** Age-related macular degeneration: New Paradigms for treatment and management of AMD / L. F. Hernández-Zimbron, R. Zamora-Alvarado, L. Ochoa-De la Paz, R. Velez-Montoya, E. Zenteno, R. Gullias-Cañizo, H. Quiroz-Mercado, R. Gonzalez-Salinas // *Oxid Med Cell Longev.* – 2018. – Vol. 2018. - P. 8374647. – doi: 10.1155/2018/8374647.

119. **Hewitt, G.** Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence / G. Hewitt, D. Jurk, F. D. Marques [et al.] // *Nat Commun.* – 2012. – Vol. 3. – P. 708. – doi: 10.1038/ncomms1708.

120. **Higuchi, S.** Influence of eye colors of Caucasians and Asians on suppression of melatonin secretion by light / S. Higuchi, Y. Motohashi, K. Ishibashi, T. Maeda // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2007. – Vol. 292, No. 6. – P. 2352-2356. – doi: 10.1152/ajpregu.00355.2006.

121. **Ho, J.** Neovascular age-related macular degeneration is associated with cataract surgery / J. Ho, S. Xirasagar, L. T. Kao, H.C. Lin // *Acta Ophthalmologica.* – 2018. – Vol. 96, No. 2. – P. 213-217. – doi: 10.1111/aos.13511

122. **Huynh, N.** Visual acuity after cataract surgery in patients with age-related macular degeneration: age-related eye disease study 2 report number 5 / N. Huynh, B. P. Nicholson, E. Agrón [et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 121, No. 6. – P. 1229-1236. – doi: 10.1016/j.ophtha.2013.12.035.

123. **Jadeja, R. N.** Oxidative Stress and Inflammation in Retinal Degeneration / R. N. Jadeja, P. M. Martin // *Antioxidants (Basel).* – 2021. – Vol. 10, No. 5. – P. 790. – doi: 10.3390/antiox10050790.

124. **Jiang, T.** Protective effects of melatonin on retinal inflammation and oxidative stress in experimental diabetic retinopathy / T. Jiang, Q. Chang, J. Cai [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – 3528274. – doi: 10.1155/2016/3528274.

125. **Jonas, J. B.** Updates on the epidemiology of age-related macular degeneration / J. B. Jonas, C. M. G. Cheung, S. Panda-Jonas // *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. – 2017. – Vol. 6, No. 6. – P. 493-497. – doi: 10.22608/APO.2017251.
126. **Kam, J. H.** Viewing ageing eyes: diverse sites of amyloid Beta accumulation in the ageing mouse retina and the up-regulation of macrophages / J. H. Kam, E. Lenassi, G. Jeffery // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5, No. 10. – e13127. – doi: 10.1371/journal.pone.0013127.
127. **Kandel, H.** Measurement of quality of life in keratoconus / H. Kandel, K. Pesudovs, S. L. Watson // *Cornea*. – 2020. – Vol. 39, No. 3. – P. 386- 393. – doi: 10.1097/ICO.0000000000002170.
128. **Kany, S.** Cytokines in Inflammatory Disease / S. Kany, J. T. Vollrath, B. Relja // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20, No. 23. – 6008. – doi: 10.3390/ijms20236008.
129. **Kaur, C.** Neuroprotective effect of melatonin against hypoxia- induced retinal ganglion cell death in neonatal rats / C. Kaur, V. Sivakumar, R. Robinson [et al.] // *J Pineal Res*. – 2012. – Vol. 54, No. 2. – P. 190-206. – doi: 10.1111/jpi.12016.
130. **Kawano, T.** Electrophysiologic evaluation of retinal pigment epithelial damage induced by photic exposure / T. Kawano, M. Kato // *Retina*. – 2003. – Vol. 23, No. 4. – P. 513-517.
131. **Kessel, L.** Cataract surgery and age-related macular degeneration: An evidence-based update / L. Kessel, D. Erngaard, J. Flesner Robinson [et al.] // *Acta Ophthalmologica*. – 2015. – Vol. 93, No. 7. – P. 593-600. – doi: 10.1111/aos.12665.
132. **Khan, S. S.** Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans / S. S. Khan, B. D. Singer, D. E. Vaughan // *Aging Cell*. – 2017. – Vol. 16, No. 4. – P. 624-633. – doi: 10.1111/accel.12601.
133. **Khorsand, M.** Melatonin reduces cataract formation and aldose reductase activity in lenses of streptozotocin-induced diabetic rat // M. Khorsand,

M. Akmalı, S. Sharzad, M. Beheshtıtabar // Iran J Med Sci. – 2016. – Vol. 41, No. 4. – P. 305-313.

134. **Kijlstra, A.** Lutein: more than just a filter for blue light / A. Kijlstra, Y. Tian, E. R. Kelly, T. T. J. M. Berendschot // Prog Retin Eye Res. – 2012. – Vol. 31, No. 4. – P. 303-315. – doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.03.002.

135. **Kim, S. Y.** Evolution of oxidative stress, inflammation and neovascularization in the choroid and retina in a subretinal lipid induced age-related macular degeneration model / S. Y. Kim, S. P. Kambhampati, I. A. Bhutto [et al.] // Exp Eye Res. – 2021. – Vol. 203. – 108391. – doi: 10.1016/j.exer.2020.108391.

136. **Kubicka-Trzaska, A.** Current concepts in pathogenesis of age-related macular degeneration / A. Kubicka-Trzaska, I. Karska-Basta, B. Romanowska-Dixon // Klinika Oczna – 2014. – Vol. 116, No. 4. – P. 277-282.

137. **Legros, C.** Melatonin MT1 and MT2 receptors display different molecular pharmacologies only in the G-protein coupled state / C. Legros, S. Devavry, S. Caignard [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2014. – Vol. 171, No. 1. – P. 186-201. – doi: 10.1111/bph.12457.

138. **Liguori, I.** Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.] // Clin Interv Aging. – 2018. – Vol. 13. – P. 757-772. – doi: 10.2147/CIA.S158513.

139. **Lindenau, W.** Cone-to-Müller cell ratio in the mammalian retina: A survey of seven mammals with different lifestyle / W. Lindenau, H. Kuhrt, E. Ulbricht [et al.] // Experimental Eye Research. – 2019. – Vol. 181. – P. 38-48. – doi: 10.1016/j.exer.2019.01.012.

140. **Lipecz, A.** Microvascular contributions to age-related macular degeneration (AMD): from mechanisms of choriocapillaris aging to novel interventions / A. Lipecz, L. Miller, I. Kovacs [et al.] // Geroscience. – 2019. – Vol. 41, No. 6. – P. 813-845. – doi: 10.1007/s11357-019-00138-3.

141. **Liu, J.** MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective / J. Liu, S. J. Clough, A. J. Hutchinson [et al.] // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2016. – Vol. 56. – P. 361-383. – doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742.
142. **Liu, J.** Changes to tear cytokines of type 2 diabetic patients with or without retinopathy / J. Liu, B. Shi, S. He [et al.] // *Molecular Vision.* – 2010. – Vol. 16. – P. 2931-2938.
143. **Liu, W.** Simultaneous optical coherence tomography angiography and fluorescein angiography in rodents with normal retina and laser-induced choroidal neovascularization / W. Liu, H. Li, R. S. Shah [et al.] // *Optics Letters.* – 2015. – Vol. 40, No. 24. – P. 5782-5785. – doi: 10.1364/OL.40.005782.
144. **Lv, X. D.** Correlation between serum melatonin and aMT6S level for age-related macular degeneration patients / X. D. Lv, S. Liu, Z. Cao [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2016. – Vol. 20, No. 20. – P. 4196-4201.
145. **Mailliet, F.** Organs from mice deleted for NRH: quinone oxid reductase 2 are deprived of the melatonin binding site MT3 / F. Mailliet, G. Ferry, F. Vella // *FEBS Lett.* – 2004. – Vol. 578. – P. 116-120. – doi: 10.1016/j.febslet.2004.10.083.
146. **McMonnies, C.** Reactive oxygen species, oxidative stress, glaucoma and hyperbaric oxygen therapy / C. McMonnies // *J Optom.* – 2018. – Vol. 11, No. 1. – P. 3-9. – doi: 10.1016/j.optom.2017.06.002.
147. **Mehta, S.** Age-Related Macular Degeneration / S. Mehta // *PrimCare.* – 2015. – Vol. 42, No. 3. – P. 377-391. – doi: 10.1016 / j. pop. 2015.05.009.
148. **Mesquida, M.** The role of inflammation in diabetic eye disease / M. Mesquida, F. Drawnel, S. Fauser // *Seminars in Immunopathology.* – 2019. – Vol. 41, No. 4. – P. 427-445. – doi: 10.1007/s00281-019-00750-7.
149. **Mimura, T.** Aqueous humor levels of cytokines in patients with age-related macular degeneration // T. Mimura, H. Funatsu, H. Noma [et al.] // *Ophthalmologica.* – 2019. – Vol. 241, No. 2. – P. 81-89. – doi: 10.1159/000490153.

150. **Mitchell, P.** Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study / P. Mitchell, W. Smith, J. J. Wang // *Ophthalmology*. – 1998. – Vol. 105, No. 8. – P. 1359-1363. – doi: 10.1016 / S0161-6420 (98) 98013-7.
151. **Momeni-Moghaddam, H.** Body mass index and binocular visionskills / H. Momeni-Moghaddam, J. Kundart, M. Ehsani [et al.] // *J Ophthalmol*. – 2012. – Vol. 26, No. 3. – P. 331-334. – doi: 10.1016/j.sjopt.2012.01.002.
152. **Moranta, D.** Intake of melatonin increases tryptophan hydroxylase type 1 activity in aged rats: Preliminary study / D. Moranta, P. Barceló, S. Aparicio [et al.] // *Exp Gerontol*. – 2014. – Vol. 49. – P. 1-4. – doi: 10.1016/j.exger.2013.10.012.
153. **Mori, H.** Developmental and age-related changes to the elastic lamina of Bruch's membrane in mice / H. Mori, H. Yamada, K. Toyama [et al.] // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. – 2019. – Vol. 257, No. 2. – P. 289-301. – doi: 10.1007/s00417-018-4184-5.
154. **Morvaridzadeh, M.** Effect of melatonin supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis / M.Morvaridzadeh, E. Sadeghi, S. Agah [et al.] // *Pharmacol Res*. – 2020. – Vol. 161. – 105210. – doi: 10.1016/j.phrs.2020.105210.
155. **Narimatsu, T.** Biological effects of blocking blue and other visible light on the mouse retina // T. Narimatsu, Y. Ozawa, S. Miyake [et al.] / *Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2014. – Vol. 42, No. 6. – P. 555-563. doi: 10.1111/ceo.12253.
156. **Newson, R.** Parameters behind "nonparametric" statistics: Kendall's tau, Somers' D and median differences / R. Newson // *Stata Journal*. – 2002. – Vol. 2, No. 1. – P. 45-64.
157. **Ng, K. Y.** Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions / K. Y. Ng, M. K. Leong, H. Liang, G. Paxinos // *Brain Struct Funct*. – 2017. – Vol. 222, No. 7. – P. 2921-2939. – doi: 10.1007/s00429-017-1439-6.

158. **Niehoff, J.** The influence of melatonin on the heart rhythm - An in vitro simulation with murine embryonic stem cell derived cardiomyocytes / J. Niehoff, M. Matzkies, F. Nguemo [et al.] // *Biomed Pharmacother.* – 2021. – Vol. 13. – 111245. – doi: 10.1016/j.biopha.2021.111245.
159. **Nishi, T.** Effects of cataract surgery on melatonin secretion in adults 60 years and older: a randomized clinical trial / T. Nishi, K. Saeki, K. Miyata [et al.] // *JAMA Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 138, No. 4. – P. 405-411. – doi: 10.1001/jamaophthalmol.2020.0206.
160. **Nosjean, O.** Comparative pharmacological studies of melatonin receptors: MT1, MT2 and MT3/QR2. Tissue distribution of MT3/QR2 / O. Nosjean, J. P. Nicolas, F. Klupsch [et al.] // *Biochemical Pharmacology.* – 2001. – Vol. 61, No. 11. – P. 1369-1379. – doi: 10.1016/s0006-2952(01)00615-3.
161. **Ostrin, L. A.** Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure / L. A. Ostrin // *Clinical and Experimental Optometry.* – 2019. – Vol. 102, No. 2. – P. 99-108. – doi: 10.1111/cxo.12824.
162. **Panyatip, P.** In Silico ADME, Metabolism prediction and hydrolysis study of melatonin derivatives / P. Panyatip, N. Nunthaboot, P. Puthongking // *International Journal of Tryptophan Research.* – 2020. – Vol. 13. – 1178646920978245. – doi: 10.1177/1178646920978245.
163. **Park, S. Y.** Melatonin suppresses tumor angiogenesis by inhibiting HIF-1alpha stabilization under hypoxia / S. Y. Park, W. J. Jang, E. Y. Yi [et al.] // *J Pineal Res.* – 2010. – Vol. 48, No. 2. – P. 178-184. – doi: 10.1111/j.1600-079x.2009.00742.x.
164. **Pascolini, D.** Global estimates of visual impairment: 2010 / D. Pascolini, S. P. Mariotti // *British Journal of Ophthalmology.* – 2012. – Vol. 96, No. 5. – P. 614-618. – doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-300539.
165. **Pavlin, C. J.** Clinical use of ultrasound biomicroscopy / C.J. Pavlin, K. Harasiewicz, M.D. Sherar [et al.] // *Ophthalmology.* – 1991. – Vol. 98. – P. 287-295.



166. **Pennesi, M. E.** Animal models of age related macular degeneration / M. E. Pennesi, M. Neuringer, R. J. Courtney // *Mol Aspects Med.* – 2012. – Vol. 33, No. 4. – P. 487-509. – doi: 10.1016/j.mam.2012.06.003.
167. **Pennington, K. L.** Epidemiology of age-related macular degeneration (amd): associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors / K. L. Pennington, M. M. DeAngelis // *Eye Vis (Lond).* – 2016. – Vol. 3. – P. 34. – doi: 10.1186/s40662-016-0063-5.
168. **Prudnikova, E.V.** Simulation of choroidal neovascularization in rabbits using indirect transpupillary laser coagulation / E.V. Prudnikova, A.E. Katelnikova, Zh.Yu. Ustenko // *E3S Web of Conferences.* – 2021. – Vol. 254. – P.09009.
169. **Pulliero, A.** Oxidative damage and autophagy in the human trabecular meshwork as related with ageing / A. Pulliero, A. Seydel, A. Camoirano [et al.] // *Public Library of Science.* – 2014. – Vol. 9, No. 6. – e98106. – doi: 10.1371/journal.pone.0098106.
170. **Qiu, G.** A new model of experimental subretinal neovascularization in the rabbit / G. Qiu, J.M. Stewart, S. Sadda [et al.] // *Experimental Eye Research.* – 2006. – Vol. 83, No. 1. – P. 141-152. doi: 10.1016/j.exer.2005.11.014.
171. **Ramkumar, H.L.** Retinal ultrastructure of murine models of dry age-related macular degeneration (AMD) / H. L. Ramkumar, J. Zhang, C. C. Chan // *Prog Retin Eye Res.* – 2010. – Vol. 29, No. 3. – P. 169-190. – doi: 10.1016/j.preteyeres.2010.02.002.
172. **Rastmanesh, R.** Potential of melatonin to treat or prevent age-related macular degeneration through stimulation of telomerase activity / R. Rastmanesh // *Med Hypotheses.* – 2011. – Vol. 76, No. 1. – P. 79-85. – doi: 10.1016/j.mehy.2010.08.036.
173. **Reibaldi, M.** Geo-epidemiology of age-related macular degeneration: new clues into the pathogenesis / M. Reibaldi, A. Longo, A. Pulvirenti [et al.] // *Am J Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 161. – P. 78-93. – doi: 10.1016/j.ajo.2015.09.031.

174. **Reiter, R. J.** Melatonin, a full service anti-cancer agent: inhibition of initiation, progression and metastasis / R. J. Reiter, S. A Rosales-Corral, D. X. Tan [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, No. 4. – P. 843. – doi: 10.3390/ijms18040843.

175. **Reiter, R. J.** Melatonin: exceeding expectations / R. J. Reiter, D. X. Tan, A. Galano // *Physiology (Bethesda).* – 2014. – Vol. 29, No. 5. – P. 325-333. – doi: 10.1152/physiol.00011.2014.

176. **Reiter, R. J.** Mitochondria: central organelles for melatonin's antioxidant and anti-aging actions / R. J. Reiter, D. X. Tan, S. Rosales-Corral [et al.] // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23, No. 2. – P. 509. – doi: 10.3390/molecules23020509.

177. **Reiter, R.J.** The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives / R.J. Reiter, D.X. Tan, S.Rosales-Corral [et al.] // *Mini Rev Med Chem.* – 2013. – Vol. 13, No. 3. – P. 373-384. – doi: 10.2174/1389557511313030006.

178. **Reppert, S. M.** Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor / S. M. Reppert, C. Godson, C. D. Mahle [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 1995. – Vol. 92, No. 19. – P. 8734-8738. – doi: 10.1073/pnas.92.19.8734.

179. **Reppert, S. M.** Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses / S. M. Reppert, D. R. Weaver, T. Ebisawa // *Neuron.* – 1994. – Vol. 13, No. 5. – P. 1177-1185. – doi: 10.1016/0896-6273(94)90055-8.

180. **Saenz-de-Viteri, M.** Oxidative stress and histological changes in a model of retinal phototoxicity in rabbits / M. Saenz-de-Viteri, H. Heras-Mulero, P. Fernandez-Robredo [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 637137. – doi: 10.1155/2014/637137.

181. **Sande, P. H.** Preliminary findings on the effect of melatonin on the clinical outcome of cataract surgery in dogs / P. H. Sande, J. Álvarez, J. Calcagno,

R. E. Rosenstein // *Vet Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 19, No. 3. – P. 184-194. – doi: 10.1111/vop.12282.

182. **Sardo, F. L.** Melatonin and hippo pathway: is there existing cross-talk? / F. L. Sardo, P. Muti, G. Blandino [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2017. – Vol. 18, No. 9. – P. 1913. – doi: 10.3390/ijms18091913.

183. **Satue, M.** A new role for 5-methoxytryptophol on bone cells function in vitro / M. Satue, J. M. Ramis, M. del Mar Arriero, M. Monjo // *J Cell Biochem.* – 2015. – Vol. 16, No. 4. – P. 551-558. – doi: 10.1002/jcb.25005.

184. **Scuderi, L.** Melatonin: implications for ocular disease and therapeutic potential / L. Scuderi, S. Davinelli, C. M. Iodice [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2019. – Vol. 25, No. 39. – P. 4185-4191. – doi: 10.2174/1381612825666191113110225.

185. **Sengupta, A.** Localization of melatonin receptor 1 in mouse retina and its role in the circadian regulation of the electroretinogram and dopamine levels / A. Sengupta, K. Baba, F. Mazzoni [et al.] // *Public Library of Science.* – 2011. – Vol. 6, No. 9. – P. 1-7.

186. **Shen, Y.** Effect of guanabenzon rat AMD models and rabbit choroidal blood flow / Y. Shen, P. Zhuang, G. C. Chiou // *Open Ophthalmol J.* – 2011, No. 5. – P. 27-31.

187. **Stahl, A.** The diagnosis and treatment of age-related macular degeneration / A. Stahl // *Dtsch Arztebl Int.* – 2020. – Vol. 117, No. 29-30. – P. 513-520. – doi: 10.3238/arztebl.2020.0513.

188. **Stefanova, N. A.** Potential of melatonin for prevention of age-related macular degeneration: experimental study / N. A. Stefanova, A. A. Zhdankina, A. Zh. Fursova, N. G. Kolosova // *Adv Gerontol.* – 2013. – Vol. 26, No. 1. – P. 122-129.

189. **Tan, D. X.** Melatonin: a mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics / D. X. Tan, L. C. Manchester, L. Qin [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2016. – Vol. 17, No. 12. – P. 2124. – doi: 10.3390/ijms17122124.

190. **Tangvarasittichai, O.** Oxidative stress, ocular disease and diabetes retinopathy / O. Tangvarasittichai, S. Tangvarasittichai // *Curr Pharm Des.* – 2018. – Vol. 24, No. 40. – P. 4726-4741. – doi: 10.2174/1381612825666190115121531.
191. **Tee, L. B.** VEGF-induced choroidal damage in a murine model of retinal neovascularization / L. B. Tee, M. A. Penrose, J. E. O'Shea [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2008. – Vol. 92, No. 6. – P. 832-838. – doi: 10.1136/bjo.2007.130898.
192. **Thomas, C. J.** Age-related macular degeneration / C. J. Thomas, R. G. Mirza, M. K. Gill // *Med Clin North Am.* – 2021. – Vol. 105, No. 3. – P. 473-491. –doi: 10.1016/j.mcna.2021.01.003.
193. **Tokarz, P.** Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD) / P. Tokarz, K. Kaarniranta, J. Blasiak // *Biogerontology.* – 2013. –Vol. 14, No. 5. – P. 461-482. – doi: 10.1007/s10522-013-9463-2.
194. **Tosini, G.** Melatonin: an underappreciated player in retinal physiology and pathophysiology / G. Tosini, K. Baba, C. K. Hwang [et al.] // *Experimental Eye Research.* – 2012. – Vol. 103. – P. 82-89. – doi: 10.1016/j.exer.2012.08.009.
195. **Tsai, D. C.** The association between clinically diagnosed insomnia and age - related macular degeneration: a population - based cohort study / D. C. Tsai, H. C. Chen, H. B. Leu [et al.] // *Acta Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 98, No. 2. – e238-e244. – doi: 10.1111/aos.14238.
196. **Varan, G.** Number of elderly people expected to be 1.5B in 2050 / G. Varan // Available at: <https://www.aa.com.tr/en/life/number-of-elderly-people-expected-to-be-15b-in-2050/1993825> (accessed 02 February 2022).
197. **Vincent, L.** Molecular and cellular pharmacological properties of 5-methoxycarbonylamino-N-acetyltryptamine (MCA-NAT): a nonspecific MT3 ligand / L. Vincent, W. Cohen, P. Delagrangue [et al.] // *Journal of Pineal Research.* – 2010. – Vol. 48, No. 3. – P. 222-229. – doi:10.1111/j.1600-079X.2010.00746.x.

198. **Vuong, L.** p53 selectively regulates developmental apoptosis of rod photoreceptors / L. Vuong, D. E. Brobst, I. Ivanovic [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, No. 6. – e67381. – doi: 10.1371/journal.pone.0067381.
199. **Vural Esmée, M. S.** Optimal dosages for melatonin supplementation therapy in older adults: a systematic review of current literature / M. S. Vural Esmée, B. C. van Munster, S. E. de Rooij // *Drugs Aging*. – 2014. – Vol. 31, No. 6. – P. 441-451. – doi: 10.1007/s40266-014-0178-0.
200. **Wagner, K. H.** Biomarkers of aging: from function to molecular biology / K. H. Wagner, D. Cameron-Smith, B. Wessner, B. Franzke // *Nutrients*. – 2016. – Vol. 8, No. 6. – P. 338. – doi: 10.3390/nu8060338.
201. **Wang, F.** Evaluation of screening schemes for eye disease in a primary care setting / F. Wang, J. M. Tielsch, D. E. Ford [et al.] // *Ophthalmic Epidemiol*. – 1998. – Vol. 5, No. 2. – P. 69-82. – doi: 10.1076/oep.5.2.69.1575.
202. **Wang, K.** Melatonin inhibits NaIO<sub>3</sub>-induced ARPE-19 cell apoptosis via suppression of HIF-1 $\alpha$ /BNIP3-LC3B/mitophagy signaling / K. Wang, Y.S. Chen, H.W. Chien, H.L. Chiou, S.F. Yang, Y.H. Hsieh // *Cell & Bioscience*. – 2022. – Vol. 12. – No.133. – doi: 10.1186/s13578-022-00879-3.
203. **Wang, S.** Pharmaceutical composition for treating macular degeneration (WO2012079419) / S. Wang, K. Cunnusamy // *Exp Opin Ther Pat*. – 2013. – Vol. 23, No. 2. – P. 269-272. – doi: 10.1517/13543776.2013.751972.
204. **Wassel, H.** Functional architecture of the mammalian retina / H. Wassel, B. B. Boycott // *Physiol Rev*. – 1991. – Vol. 71, No. 2. – P. 447-480.
205. **Wiechmann, A. F.** Role of melatonin and its receptors in the vertebrate retina / A. F. Wiechmann, D. M. Sherry // *Int Rev Cell Mol Biol*. – 2013. – Vol. 300. – P. 211-242. – doi: 10.1016/B978-0-12-405210-9.00006-0.
206. **Wiktor, A.** Lipofuscin-mediated photodynamic stress induces adverse changes in nanomechanical properties of retinal pigment epithelium cells / A. Wiktor, M. Sarna, D. Wnuk, T. Sarna // *Sci Rep*. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 17929. – doi: 10.1038/s41598-018-36322-2.

207. **Wiktorowska-Owczarek, A.** Pathogenesis and prophylaxis of AMD: focus on oxidative stress and antioxidants / A. Wiktorowska-Owczarek, J. Z. Nowak // *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. – 2010. – Vol. 64. – P. 333-343.
208. **Xie, Z.** A review of sleep disorders and melatonin / Z. Xie, F. Chen, W. A. Li [et al.] // *Neurol Res*. – 2017. – Vol. 39, No. 6. – P. 559-565. – doi: 10.1080/01616412.2017.1315864.
209. **Yamaguchi, T.** Bilateral alterations in corneal nerves, dendritic cells and tear cytokine levels in ocular surface disease / T. Yamaguchi, P. Hamrah, J. Shimazaki // *Cornea*. – 2016. – Vol. 35, Supl. 1. – P. 65-70. – doi: 10.1097/ICO.0000000000000989.
210. **Yi, C.** Effects of melatonin in age-related macular degeneration / C. Yi, X. Pan, H. Yan, M. Guo, W. Pierpaoli // *Ann N Y Acad Sci*. – 2005. – Vol. 1057. – P. 384-392. – doi: 10.1196/annals.1356.029.
211. **Youssef, P. N.** Retinal light toxicity / P. N. Youssef, N. Sheibani, D. M. Albert // *Eye (Lond)*. – 2011. – Vol. 25, No. 1. – P. 1-14. doi: 10.1038/eye.2010.149.
212. **Yu, H.** Therapeutic effects of melatonin on ocular diseases: knowledge map and perspective / H. Yu, Q. Wang, W. Wu [et al.] // *Front Pharmacol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 721869. – doi: 10.3389/fphar.2021.721869.
213. **Zawilska, J.** Daily variation in the concentration of melatonin and 5-methoxytryptophol in the goose pineal gland, retina, and plasma / J. Zawilska // *Gen Comp Endocrinol*. – 2003. – Vol. 134, No. 3. – P. 296–302.
214. **Zeiss, C.J.** Animals as models of age-related macular degeneration: an imperfect measure of the truth / C.J. Zeiss // *Vet Pathol*. – 2010. – Vol. 47, No. 3. – P. 396-413. – doi: 10.1177/0300985809359598.
215. **Zhao, D.** Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants / D. Zhao, Y. Yu, Y. Shen [et al.] // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 249. – doi: 10.3389/fendo.2019.00249.

216. **Zhao, S. H.** Study on the experimental model of krypton laser-induced choroidal neovascularization in the rats / S. H. Zhao, S. Z. He // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. – 2003. – Vol. 39, No. 5. – P. 298-302.