

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н.ФЕДОРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ТРОШИНА АННА АЛЕКСЕЕВНА

**ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ И ГЛИАЛЬНЫЙ
НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНОЙ
ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ И ВОЗРАСТНОЙ
КАТАРАКТОЙ**

3.1.5. – офтальмология

3.3.3. – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Шпак Александр Анатольевич

доктор биологических наук, профессор

Гуляева Наталия Валерьевна

Москва - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Общая характеристика нейротрофических факторов	11
1.2. Фактор роста нервов	14
<i>1.2.1. Роль ФРН в патогенезе неврологической патологии</i>	16
<i>1.2.2. Роль ФРН в патогенезе заболеваний органа зрения</i>	19
1.2.2.1. Роль ФРН в патологии переднего отрезка глаза.....	19
1.2.2.2. Роль ФРН в патологии заднего отрезка глаза и глаукомы ..	22
1.3. Глиальный нейротрофический фактор	26
<i>1.3.1. Роль ГНТФ в патогенезе неврологической патологии</i>	28
<i>1.3.2. Роль ГНТФ в патогенезе заболеваний органа зрения</i>	29
1.3.2.1. Роль ГНТФ в патологии переднего отрезка глаза	29
1.3.2.2. Роль ГНТФ в патологии заднего отрезка глаза и глаукомы	31
1.4. Визуализация структур глазного дна у пациентов с помутнениями оптических сред глаза	33
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	37
2.1. Общая характеристика материала исследования	37
2.2. Клинико-функциональные методы исследования	40
2.3. Клинико-лабораторные методы исследования	44
<i>2.3.1. Описание и подготовка биологического материала, взятого для исследования</i>	44
<i>2.3.2. Определение ФРН в биологических жидкостях человека</i>	45
<i>2.3.3. Определение ГНТФ в биологических жидкостях человека</i>	46
Глава 3. КРИТЕРИИ НАДЕЖНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ	47

3.1. Результаты измерения оптической плотности хрусталика различными методами	48
3.1.1. Оптическая когерентная томография	48
3.1.2. Денситометрия хрусталика на приборе Pentacam HR.....	49
3.1.3. Клиническая оценка оптической плотности хрусталика	51
3.2. Операция и послеоперационное обследование пациентов: оптическая когерентная томография	53
Глава 4. ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ И ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ	59
4.1. Содержание ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с возрастной катарактой.....	60
4.2. Содержание ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с ПОУГ.....	63
Глава 5. ГЛИАЛЬНЫЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ И ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ	68
5.1. Содержание ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с возрастной катарактой.....	69
5.2. Содержание ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с ПОУГ.....	72
5.2.1 Динамика изменений содержания глиального нейротрофического фактора в исследуемых биологических жидкостях по мере утяжеления глаукомы.....	77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	81
ВЫВОДЫ.....	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	101

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, глаукома является основным источником необратимой слепоты в мире; согласно недавнему метаанализу, к 2040 году число людей с глаукомой увеличится до 111,8 млн. человек (Tham Y. C., 2014).

Вопросы патогенеза первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) до сих пор остаются окончательно не изученными, несмотря на многолетние усилия ученых.

В настоящее время глаукома рассматривается как мультифакториальное нейродегенеративное заболевание, в процессе которого происходят повреждение и гибель ганглиозных клеток сетчатки (ГКС), проявляющиеся в виде прогрессирующей глаукомной оптической нейропатии (ГОН) и патологических изменений полей зрения (Аветисов С. Э., 2019, Егоров Е.А. и др., 2014).

В ряде крупных многоцентровых исследований последних лет убедительно показано, что одним из основных механизмов гибели ГКС при глаукоме, как и при других нейродегенеративных заболеваниях, является апоптоз (Maria F. Cordeiro et al., 2017; Kerrigan-Baumrind et al., 2000; Guo et al., 2007; Quigley et. al, 2011). Среди выявленных пусковых механизмов апоптоза ГКС выделяют снижение аксоплазматического транспорта нейротрофинов.

Нейротрофические факторы являются важными регуляторами роста, дифференцировки и функционирования нейронов (Гомазков О.А., 2011; Squire L. et al., 2008). Среди других нейротрофических факторов, в последние годы большое внимание исследователей привлекают фактор роста нервов (ФРН) и глиальный нейротрофический фактор (ГНТФ).

Исследования данных нейротрофических факторов широко проводились при дегенеративных неврологических заболеваниях, таких как болезни Паркинсона и Альцгеймера (Rocco, 2018; Samraio TB, 2017; Garbayo E, 2011; Cuello et al., 2010; Siegel, 2000) а также при психических расстройствах - шизофрении, депрессии и др. (Neugebauer et al., 2019; Tang et al., 2019; Chen et al., 2015; Tseng et al., 2013). Активно изучаются возможности терапевтического применения ФРН и ГНТФ при нейродегенеративных заболеваниях (Allen et al., 2013).

В офтальмологии исследования роли ФРН при патологии переднего отрезка глазного яблока обеспечили создание оригинального метода лечения нейротрофического кератита рекомбинантным ФРН (Cenergermin), выпускаемым в виде глазных капель Oxervate в США и Европе. Активно ведутся клинические исследования глазных капель с рекомбинантным ФРН у пациентов с глаукомой.

На экспериментальных моделях глаукомы и повреждения зрительного нерва показана нейропротекторная роль ФРН и ГНТФ, выражавшаяся в повышении выживаемости ганглиозных клеток сетчатки (Colafrancesco et al., 2011; Lambiase et al., 2010; Flachsbarth et al., 2018; Dulz et al., 2020; Xiao et al., 2010).

Тем не менее, в литературе представлены немногочисленные и противоречивые данные о содержании ФРН и ГНТФ в организме человека; в большинстве работ изучалось содержание данных нейротрофических факторов на системном уровне, преимущественно у пациентов с неврологической патологией. Ранее проводились исследования нейротрофического фактора головного мозга (НФГМ) и цилиарного нейротрофического фактора (ЦНТФ), показавшие их важную роль в патогенезе глаукомы (Шпак А.А. и соавт., 2017, 2018; Курышева Н.И., 2006). В настоящее время и для ФРН, и для ГНТФ остаются не изученными

их концентрации во внутриглазных жидкостях, в том числе по мере утяжеления глаукомы.

Основным способом изучения содержания нейротрофических факторов в глазу пациентов с глаукомой является анализ влаги передней камеры, полученной в ходе операции экстракции возрастной катаракты. Однако большие сложности представляет постановка диагноза глаукомы у больных с помутнениями оптических сред глаза. В частности, требуют детального изучения и сравнения способы оценки степени помутнения сред и установление критериев, определяющих возможность проведения таких диагностических исследований как оптическая когерентная томография (ОКТ).

Таким образом, исследование нейротрофических факторов у пациентов с глаукомой представляет большой интерес и в дальнейшем может помочь в разработке новых терапевтических стратегий лечения данного заболевания, в частности, путем их использования в целях нейропротекции. Актуальным является установление критериев, определяющих возможность диагностики глаукомы методом ОКТ у пациентов с помутнениями оптических сред глаза.

Цель: изучить содержание фактора роста нервов и глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры, слезной жидкости и сыворотке крови у больных с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной катарактой.

Задачи:

1. Оценить влияние возрастной катаракты на качество измерений оптической когерентной томографии, используемых в диагностике первичной открытоугольной глаукомы.

2. Изучить содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
3. Изучить содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой и характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.
4. Изучить содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
5. Изучить содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой и характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.

Научная новизна

1. Установлены оптимальные условия, необходимые для проведения качественных и информативных измерений методом оптической когерентной томографии для диагностики первичной открытоугольной глаукомы у больных с возрастной катарактой.
2. Впервые изучено содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
3. Впервые изучено содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой; установлен характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.

4. Впервые изучено содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
5. Впервые изучено содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой; установлен характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.

Практическая значимость

Установленные показатели и соотношения концентраций фактора роста нервов и глиального нейротрофического фактора в исследуемых биологических жидкостях могут быть использованы в качестве нормативов для дальнейших исследований, проводимых по описанной методике.

Выявленные закономерности могут способствовать разработке новых подходов в диагностике и лечении первичной открытоугольной глаукомы, основанных на изучении роли нейротрофических факторов в патогенезе заболевания.

Разработаны рекомендации для проведения наиболее информативного обследования методом ОКТ для диагностики первичной открытоугольной глаукомы у пациентов с возрастной катарактой.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, сочетающейся с возрастной катарактой, существенно снижено содержание глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры, слезной жидкости и сыворотке крови в 1-2 стадиях заболевания, а также во влаге передней камеры и слезной жидкости в 3-4 стадиях заболевания

(по классификации Mills et al., 2006), при этом по мере развития глаукомы концентрация глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры и слезной жидкости постепенно повышается, оставаясь достоверно сниженной относительно пациентов без глаукомы.

2. Первичная открытоугольная глаукома не оказывает существенного влияния на содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с возрастной катарактой.
3. Критериями надежности измерений структур глазного дна методом оптической когерентной томографии, используемых в диагностике первичной открытоугольной глаукомы у пациентов с возрастной катарактой, могут служить только собственные данные прибора (сила ОКТ-сигнала).

Внедрение в практику

Разработанные критерии измерений структур глазного дна методом оптической когерентной томографии у пациентов с возрастной катарактой внедрены в практическую деятельность головной организации ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр имени З.П. Соловьева» Департамента здравоохранения г. Москвы.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы представлены на XV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» в рамках XII съезда общества

офтальмологов России (Москва, 2020); еженедельной научно-практической конференции ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (Москва, 2021); ежегодных конференциях Ассоциации исследователей в области зрения и офтальмологии – ARVO (Балтимор, США, 2020; 2021).

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 7 научных работ, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 – в иностранной печати.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 14 отечественных и 160 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 10-ю таблицами и 10-ю рисунками. Иммуноферментный анализ выполнялся на базе лаборатории ГБУЗ «НПЦ им. З. П. Соловьева ДЗМ» к.б.н. Дружковой Т.А. под руководством и контролем профессора, д.б.н. Гуляевой Н.В., которым автор выражает глубокую признательность.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика нейротрофических факторов

На сегодняшний день экспериментальные и клинические исследования нейротрофических факторов рассматриваются как приоритетные в фундаментальных научных разработках, посвященных функционированию и развитию нервной и зрительной системы.

Результаты экспериментов, проведенных на животных и в клеточных культурах, доказали, что эти факторы обладают впечатляющими эффектами, которые в ближайшем будущем могут помочь в разработке новых терапевтических стратегий, направленных на лечение различных патологических состояний.

Во время онтогенетического развития нейротрофические факторы играют ведущую роль в поддержании выживания и дифференцировки нейронов.

Выявление аномальной экспрессии генов, которые кодируют нейротрофические факторы и их рецепторы, способствовало расшифровке патогенеза многих расстройств, возникающих во время онтогенетического развития нервной системы [125].

Исходя из результатов исследований, проведенных в последние годы, дефицит нейротрофических факторов все чаще считается ответственным за развитие некоторых дегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона [147, 149, 71], а также за возникновение психических заболеваний, например, шизофрении и депрессии [129, 161, 164, 41].

Особенно важны результаты экспериментов на животных, которые доказали, что нейротрофические факторы оказывают нейропротекторное

терапевтическое действие при многочисленных патологических состояниях [22, 32, 45, 48, 100, 114, 69, 58, 168].

Нейротрофические факторы представляют собой крупные физиологически активные полипептиды (до 100 – 150 аминокислотных остатков), которые регулируют рост и дифференцировку нейронов в развивающихся системах и их функциональную стабильность. Нейротрофинам принадлежит особая роль в защите и репарации нейрональных структур при ишемических и травматических повреждениях. Действие нейротрофических факторов заключается в модуляции биологических процессов, осуществляемых на различных уровнях; в общем виде это влияние состоит в регуляции экспрессии генов функционально значимых белков, рецепторов, медиаторов и, соответственно, включении или выключении альтернативных регуляторных звеньев (систем) [67].

Нейротрофические факторы, согласно современной классификации, включают группы (подсемейства) структурно гомологичных пептидов, исходно оцениваемых по сходству с первым из открытых представителей ростовых факторов – фактором роста нервов (ФРН) [4]:

1. Подсемейство нейротрофинов

1.1. Фактор роста нервов (Nerve Growth Factor, NGF).

1.2. Нейротрофический фактор головного мозга (Brain-derived Neurotrophic Factor, BDNF).

1.3. Нейротрофин-3 (Neurotrophin-3, NT-3).

1.4. Нейротрофин-4 (Neurotrophin-4, NT-4).

2. Подсемейство глиального фактора.

2.1. Глиальный нейротрофический фактор (Glial Cell line-derived Neurotrophic Factor, GDNF).

2.2. Нейртурин (Neurturin, NTR).

2.3. Артемин (Artemin, ART).

2.4. Персефин (Persephin, PSP).

3. Подсемейство цилиарного фактора.

3.1. Цилиарный нейротрофический фактор (Ciliary Neurotrophic Factor, CNTF).

3.2. Ингибирующий фактор лейкемии (Leukemia Inhibitory Factor, LIF).

3.3. Интерлейкин-6 (Interleukin-6, IL-6).

4. Другие нейротрофические факторы.

4.1. Мидкин (Midkine, МК).

4.2. Фактор созревания глии (Glial maturation factor, GMF)

4.3. Инсулиноподобный фактор роста-1 (Insulin-like growth factor -1, IGF-1) и др.

Со времени своего первоначального открытия, нейротрофические факторы повысили ожидания ученых относительно того, что их клиническое применение может обеспечить эффективную терапию в отношении нейродегенеративных заболеваний, которые ранее не поддавались лечению. Имеется внушительный объем доказательств нейропротекторного действия нейротрофических факторов на моделях нейродегенеративных заболеваний [158].

1.2. Фактор роста нервов

Фактор роста нервов (Nerve Growth Factor, NGF) является первым из обнаруженных нейротрофических факторов [111].

ФРН представляет собой белок, содержащий 118 аминокислотных остатков, структурированных в две полипептидные цепи, с молекулярным весом 26 кДа [4]. ФРН продуцируется различными типами клеток и высвобождается в кровотоки, оказывая решающее влияние на выживание нейронов центральной и периферической нервной системы [111]. Фактор обнаруживается в клетках нервной, иммунной и эндокринной систем, что указывает на его существенную роль в регуляции гомеостаза [109, 4].

Новаторские исследования, начатые в начале 1950-х годов Р. Леви-Монтальчини на лабораторных животных и изолированных клетках, были сосредоточены на биологическом действии ФРН [156]. Эти исследования продемонстрировали защитное действие ФРН не только на выживание дегенерирующих периферических нервных клеток, но и на регуляцию синтеза нейротрансмиттеров и нейропептидов симпатических и сенсорных нервных клеток [109, 110]. Впоследствии были идентифицированы и другие факторы, которые могут регулировать сохранение жизнедеятельности и дифференциацию нервных клеток.

ФРН оказывает свое влияние на рост и выживание периферических сенсорных и симпатических нейронов и ряда нейронов головного мозга, в частности, холинергических нейронов базального переднего мозга, являющихся одними из основных клеток-мишеней ФРН в центральной нервной системе [109, 80, 81].

Обнаружено, что ФРН действует не только на рост и дифференцировку периферических симпатических и сенсорных нейронов, но и взаимодействует с рядом других клеток-мишеней в нервной системе, а также с вненейрональными мишенями, такими как тучные клетки, Т- и В-

лимфоциты, гранулоциты, моноциты, кератиноциты, эндотелиальные клетки, гормон-секретирующие клетки репродуктивной системы [110, 56, 114, 123, 144]. Действие ФРН на клетки, принадлежащие к иммунной и эндокринной системам, позволяет предположить, что нейротрофин играет модулирующую роль в нейро-иммуно-эндокринных механизмах жизненно важного значения для регуляции гомеостатических процессов [163]. Было показано, что уровни ФРН в циркулирующей крови и мозге претерпевают значительные изменения после воздействия стрессовых явлений, как на животных моделях, так и у человека [21].

В 1970-х годах было описано существование предшественника ФРН (proNGF) [31]. ProNGF представляет собой полипептид, почти вдвое превышающий размер ФРН, который включает про-область на N-конце и так называемый «зрелый» ФРН в виде C-концевой части длиной 118-120 аминокислот [82]. Было установлено, что как proNGF, так и NGF могут ретроградно транспортироваться вдоль нейронов [52]; proNGF обладает как нейротоксической, так и нейротрофической активностями, в зависимости от взаимодействия с различными рецепторами [117, 130].

Биологическая активность ФРН опосредуется двумя различными типами рецепторов: тирозинкиназными рецепторами Trk (Trk-A, Trk-B, Trk-C) и рецептором p75NTR, членом надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF) [16, 23, 15]. proNGF может активировать как TrkA, так и рецепторный комплекс p75NTR-Sortilin, соответственно вызывая нейротрофическую или проапоптотическую передачу сигналов [117, 130].

1.2.1. Роль ФРН в патогенезе неврологической патологии

В ЦНС наибольшее количество ФРН вырабатывается в коре головного мозга, гиппокампе и гипофизе, хотя значительные количества этого нейротрофина вырабатываются и в других областях, включая базальные ганглии, таламус, спинной мозг [167]. Первое исследование, предполагающее присутствие ФРН или его рецепторов в ЦНС, было опубликовано в 1984 году [154]. Последующие исследования показали, что ФРН, введенный непосредственно в мозг, может транспортироваться к холинергическим нейронам базального переднего мозга, что улучшает вызванные экспериментом холинергические дисфункции [81, 154]. ФРН регулирует развитие и функционирование холинергических нейронов в базальном переднем мозге [81, 89] и стриатуме [89, 70], а также норадренергических нейронов в гипоталамусе [20, 74].

В литературе представлены многочисленные сведения о содержании ФРН в сыворотке крови [41, 48, 140, 171]. При этом наблюдается очень большой разброс показателей: от $5,5 \pm 1,2$ пг/мл [131] до 18500 ± 6100 пг/мл [140].

Поскольку дегенерация холинергических нейронов базального переднего мозга и снижение когнитивных способностей являются отличительными признаками болезни Альцгеймера [51, 152], было высказано предположение, что ФРН может иметь терапевтическую ценность для пациентов с данным заболеванием. На основании этих данных было предложено и изучено возможное клиническое применение ФРН при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона [136, 21].

Болезнь Альцгеймера - наиболее распространенный тип деменции в пожилом возрасте, характеризующийся ранними изменениями синаптических белков и синаптических функций с образованием

аномальных тау- и амилоидных белков [46]. Согласно литературным данным, во время прогрессирования заболевания наблюдается серьезный прогрессирующий дефицит памяти, связанный с массивной потерей нейронов и ухудшением гомеостатических процессов в мозге [170, 24, 153]. Холинергические нейроны базального переднего мозга, иннервирующие гиппокамп и кору головного мозга, - области, контролирующие память и внимание, весьма восприимчивы к патологическим изменениям и первыми вовлекаются в нейродегенеративный процесс [46, 27].

В патофизиологических механизмах болезни Альцгеймера нейротрофические факторы играют фундаментальную и защитную роль. Нейротрофины контролируют пластичность, дифференциацию и выживаемость холинергических нейронов базального переднего мозга; передача сигналов этих пептидов чрезвычайно изменяется в ходе развития заболевания [159].

ФРН является одним из наиболее изученных нейротрофинов в патофизиологии болезни Альцгеймера [34, 46, 159]. Во время развития заболевания дефицит ФРН ассоциирован с повышенным образованием амилоида, начальными синаптическими изменениями и когнитивными нарушениями.

Изменение передачи сигналов ФРН возникает на ранних стадиях нейродегенерации, как показали исследования на животных и клеточных моделях [37]. В моделях на животных, блокирование передачи сигналов ФРН / TrkA вызывает серьезный дефицит холинергических функций [173, 139] и ведет к общей потере центральной холинергической активности [50].

ФРН способствует выживанию холинергических нейронов базального переднего мозга, которые, как известно, подвергаются дегенерации при ряде неврологических расстройств – таких как болезнь Паркинсона и Альцгеймера. С учетом этого была сформулирована гипотеза

о том, что внутримозговое введение ФРН может уменьшать или предотвращать дегенерацию нейронов в головном мозге [147].

История клинических испытаний ФРН отсчитывается с начала 1990-х годов, когда на основании лабораторных данных о роли ФРН в нейронах ЦНС, пациентам, страдающим болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера, начали вводить рекомбинантный ФРН путем внутрицеребровентрикулярной инъекции [136, 135, 62]. Клинические испытания были проведены у пациентов с болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона и опубликованы в 1990-х годах шведскими учеными [136, 62, 134]. Результаты показали частичные положительные эффекты после введения ФРН путем внутрицеребровентрикулярной инъекции имплантируемыми инфузионными системами, такие как увеличение коркового кровотока, прогрессирующее снижение медленной волновой активности ЭЭГ и улучшение вербальных тестов на эпизодическую память. К сожалению, существуют трудности доставки ФРН непосредственно к нейронам головного мозга из-за плохой проницаемости гематоэнцефалического барьера для ФРН при системном введении [138]. Применение ФРН путем внутрицеребровентрикулярной инъекции также приводило к некоторым побочным эффектам, таким как обратимая потеря веса в период инфузии ФРН и развитие миалгии и гипералгезии после начала инфузии. Такие симптомы могут отражать ФРН-опосредованную гиперактивацию ноцицептивной системы передачи в спинном мозге [113]. Общая неудача этих испытаний была в основном связана с низкой дозой рекомбинантного ФРН, которой было недостаточно для получения значительных терапевтических результатов из-за побочных эффектов [26].

Большое количество доклинических и клинических исследований указывают на важную роль нейротрофических факторов, в том числе и ФРН, в патофизиологии психических расстройств. Нейротрофины играют ключевую роль в управлении пластичностью мозга и поведением, особенно

в критические периоды в онтогенезе, когда формирующийся мозг чрезвычайно чувствителен к внешним раздражениям [46].

Согласно одной из гипотез, возникновение депрессии связано со снижением экспрессии некоторых нейротрофинов [59].

Различные клинические исследования показали связь снижения уровня ФРН у пациентов с депрессией по сравнению со здоровыми людьми [55, 116]

Другие серьезные психические расстройства, такие как шизофрения и биполярное расстройство коррелируют с периферическими уровнями ФРН [124, 169].

Многолетние исследования подтвердили важнейшую роль ФРН в развитии и функционировании нервной системы; дальнейшее изучение молекулярных механизмов действия этого нейротрофина может помочь в разработке эффективных методов лечения во многих клинических областях, включая нейродегенерацию и другие нарушения нервной системы.

1.2.2. Роль фактора роста нервов в патогенезе заболеваний органа зрения

1.2.2.1. Роль ФРН в патологии переднего отрезка глаза

В литературе представлено немало исследований, свидетельствующих о том, что ФРН присутствует в различных структурах глаза. ФРН и его рецепторы, TrkA и p75, обнаруживаются как в переднем, так и в заднем отрезке глазного яблока при отсутствии патологических состояний [32, 94, 54]. В результате экспериментов, проведенных на лабораторных животных, было установлено, что ФРН экспрессируется в роговице, радужной оболочке, цилиарном теле и хрусталике [91, 73]; ФРН и его рецепторы присутствуют в ткани слезной железы [126]. Исследования *in vitro* показали, что ФРН продуцируется, высвобождается и используется

конъюнктивальными клетками (эпителиальными, бокаловидными, иммунными клетками и фибробластами) [92]. Установлено, что ФРН экспрессируется эпителиальными клетками передней капсулы хрусталика человека [77]. ФРН также был определен в слезной жидкости человека, что, вероятно, указывает на его роль в поддержании гомеостаза слезной пленки [49, 93, 106].

ФРН привлек внимание ученых к лечению пациентов с хроническими дефектами эпителия, так как было установлено, что экзогенное введение ФРН играет критическую роль в миграции и пролиферации клеток роговицы [94]. Эпителиальные клетки роговицы являются одними из наиболее плотно иннервированных клеток организма, и изменение их иннервации может вызвать повреждения роговицы с последующими нарушениями зрения [104, 120]. Тем не менее, первое явное доказательство того, что ФРН играет такую защитную роль для клеток роговицы, было опубликовано Lambiase и коллегами, которые продемонстрировали, что местное применение ФРН у пациентов с нейротрофическим кератитом, стимулирует заживление роговицы [94, 33].

Исследования показали, что местное применение ФРН вызывало полное заживление после нескольких недель лечения у пациентов, страдающих от нейротрофического кератита и не реагирующих на обычные методы лечения [94]. Кроме того, местное применение ФРН усилило прозрачность роговицы и образование слезной пленки, наблюдалось улучшение зрительных функций [33, 32, 100]. Взятые вместе, эти результаты указывают на то, что ФРН действует как плеiotропный фактор для поврежденной поверхности роговицы с помощью различных механизмов, таких как стимуляция иннервации и заживления роговицы, модуляция стволовых клеток, очищение как стромальных, так и эндотелиальных клеток [32, 100, 114].

Содержание ФРН в слезной жидкости изучалось у пациентов с синдромом сухого глаза - хронического заболевания глазной поверхности, характеризующегося ухудшением количества и качества слезной пленки [47, 93, 49]. Lambiase A. с соавторами в 2011 году установили, что у пациентов с данной патологией наблюдается существенное повышение ФРН в слезе, также была выявлена прямая корреляция между тяжестью патологического процесса и уровнем ФРН. Тем не менее, авторы полагают, что данные изменения не связаны с патогенезом синдрома сухого глаза, а являются результатом повреждения глазной поверхности [93].

Ни в одном из рассмотренных исследований не сообщалось о появлении значительных побочных эффектов после местного применения ФРН. Возможное возникновение побочных эффектов было конкретно рассмотрено в исследовании Lambiase A. и соавторов, опубликованном в 2007 году, в котором оценивался эффект местного лечения ФРН у 11 пациентов с нейротрофической кератопатией [98]. Дискомфорт глаза, описываемый как умеренное и терпимое болезненное ощущение, длился менее часа после инстилляции глазных капель и затем исчезал, даже когда лечение ФРН было продолжено после заживления язв роговицы. Ни у одного из пациентов не возникло системных симптомов во время лечения или во время наблюдения.

Следует отметить, что в 2018 г в США и Европе было одобрено клиническое применение ФРН в форме глазных капель для лечения нейротрофического кератита, что дополнительно подтверждает его безопасность и эффективность.

Что касается содержания ФРН во влаге передней камеры, Chowdhury U.R. с соавторами в 2010 г методом протеомного анализа был установлен только факт наличия beta-ФРН и ФРН R во ВПК пациентов, оперируемых по поводу неосложненной катаракты [44]. В работах Chalam K. (2008 г.) и Cheng Y. (2019 г.) были выявлены весьма низкие, практически не

определяемые концентрации ФРН [39, 42]. Такие результаты были получены при проведении мультиплексного анализа, обеспечивающего одновременное измерение концентраций большого числа цитокинов.

Несколькими авторами изучалась экспрессия нейротрофических факторов и их рецепторов в роговице человека при кератоконусе [45, 95]. Для исследования были использованы ткани роговицы реципиентов после сквозной кератопластики по поводу кератоконуса. Было установлено, что экспрессия обоих рецепторов ФРН, TrkA и p75NTR, была значительно увеличена в роговицах с кератоконусом. Экспрессия мРНК нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) и нейротрофина NT-4 была также повышена. Авторами был сделан вывод, что изменение экспрессии нейротрофических факторов может играть важную роль в патогенезе кератоконуса и может служить в качестве новых маркеров его прогрессирования [95].

1.2.2.2. Роль ФРН в патологии заднего отрезка глаза и глаукомы

ФРН и его рецепторы экспрессируются также структурами заднего сегмента глаза, включая стекловидное тело и сосудистую оболочку [91, 121]. ФРН продуцируется ганглиозными клетками сетчатки, биполярными нейронами и глиальными клетками и имеет решающее значение в защитных механизмах при ряде патологических состояний [145]. ФРН и его рецепторы широко представлены и в центральных отделах зрительного пути (латеральное колленчатое ядро и зрительная кора) [22, 142]. В период развития зрительной системы ФРН, а также его рецепторы TrkA и p75, выражены в многочисленных зрительных центрах, от сетчатки до зрительной коры, где ФРН влияет на рост, выживаемость и селективный апоптоз нейронов.

Экспериментальные данные о роли ФРН в физиологии нервной системы побудили к исследованию влияния этого нейротрофина на повреждение сетчатки, вызванное глаукомой.

Глаукома, одна из ведущих причин слепоты во всем мире, представляет собой хроническую прогрессирующую оптическую нейропатию, объединяющую группу заболеваний с характерными морфологическими изменениями головки зрительного нерва и слоя нервных волокон сетчатки при отсутствии другой офтальмопатологии и врожденных аномалий [63].

Данное заболевание сопровождается дегенерацией ганглиозных клеток сетчатки, потерей аксонов зрительного нерва и, как следствие, прогрессирующим дефицитом поля зрения [1]. Также характерным признаком этого заболевания является повышенное внутриглазное давление (ВГД). Тем не менее, несмотря на успешное лечение глазной гипертензии, до 20% пациентов с глаукомой показывают прогрессирование дефектов поля зрения с потерей ганглиозных клеток сетчатки.

Предварительные результаты показали, что ФРН может помочь в разработке нового клинического подхода к лечению глаукомы [101].

Недавно на модели глаукомы у крыс было продемонстрировано, что местно применяемый ФРН замедляет апоптоз ганглиозных клеток сетчатки и стимулирует восстановление поврежденных ГКС [48].

Эти наблюдения подводят к гипотезе о том, что введение ФРН в глаз защитит поврежденные клетки сетчатки у пациентов с глаукомой. Lambiase et al. (2009) продемонстрировал, что применение экзогенного NGF предотвращает дегенерацию ганглиозных клеток сетчатки в экспериментальной модели глаукомы у крыс; на основании этих данных был использован тот же режим дозировки у трех пациентов с быстрой и прогрессирующей потерей поля зрения, несмотря на нормализованное внутриглазное давление [97].

Согласно этим экспериментальным данным, пациенты с глаукомой, получавшие глазные капли с ФРН, демонстрировали улучшение функции зрительного нерва, контрастной чувствительности и остроты зрения. Значительно меньшая потеря ГКС наблюдалась при лечении ФРН, связанном с ингибированием гибели клеток при апоптозе. У пациентов, получавших ФРН, наблюдалось длительное улучшение периметрических показателей, функции зрительного нерва, контрастной чувствительности и остроты зрения.

В одном из последних исследований Oddone F. и соавторов, опубликованном в 2017 г., было обнаружено, что уровень ФРН в сыворотке крови значительно снижен на ранних и умеренных стадиях глаукомы. При этом концентрация данного нейротрофина в сыворотке крови у пациентов с далекозашедшей стадией глаукомы была более высокой и сходной с уровнем, обнаруженным у здоровых пациентов контрольной группы [131].

В настоящее время на базе Стэнфордского университета ведется 3-я фаза клинических исследований по применению ФРН в каплях у пациентов с глаукомой, что указывает на большой фармакологический потенциал данного нейротрофина. Подход, который включал бы нейропротекцию с помощью экзогенного введения нейротрофических факторов, мог бы улучшить перспективы лечения этого сложного заболевания.

Терапевтическая роль ФРН также была продемонстрирована на моделях пигментного ретинита - генетического заболевания, характеризующегося прогрессирующей дегенерацией фоторецепторов, ведущей к потере зрения. Исследования, проведенные на моделях пигментного ретинита у грызунов, показали, что местное введение NGF способно замедлять дегенерацию фоторецепторов [22, 108, 96].

Недавно были опубликованы результаты клинических испытаний у пациентов с пигментным ретинитом, получавших ФРН в виде глазных капель [66]. Исследование подтвердило безопасность применения ФРН при

пигментном ретините, сообщая только о временном и легко переносимом локальном раздражении роговицы в качестве побочного эффекта. Что касается эффективности, 3 из 8 пациентов сообщили о субъективном ощущении улучшения зрительных функций, связанном с временным расширением поля зрения и улучшением электрофизиологических показателей [66].

Фактор роста нервов играет решающую роль в заболеваниях сетчатки, как показывают модели *in vitro* / *in vivo*. Основной эффект включает нейропротекторную активность в отношении поврежденных клеток сетчатки, как это наблюдается при экспериментальной диабетической ретинопатии, и у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и больных с диабетической ретинопатией.

По данным экспериментальных исследований, изменения ФРН наблюдались в стекловидном теле на животных моделях диабетической ретинопатии [28, 146]. В стекловидном теле пациентов, страдающих диабетической ретинопатией, наблюдались изменения нормальных уровней NGF, BDNF, NT-3 и NT-4. У данной категории пациентов была обнаружена корреляция между витреальным уровнем ФРН и медиаторами воспаления, что может быть связано с состояниями окислительного стресса [35].

Эффект местного применения ФРН был протестирован у 94-летней пациентки с возрастной макулярной дегенерацией, не поддающейся доступным в настоящее время методам лечения и почти полностью потерявшей зрение [99]. Пациентка применяла глазные капли с ФРН в течение 6 месяцев; через 3 месяца после начала лечения наблюдалось улучшение остроты зрения и электрофизиологических параметров [99].

Применение глазных капель с ФРН было описано у пациентов с глиомами зрительного нерва [43, 64, 66], у которых также имело место улучшение зрительных функций и электрофизиологических показателей.

Следовательно, ФРН обладает широким фармакологическим потенциалом в отношении заболеваний, затрагивающих передний и задний отрезок глаза, а также заболеваний центральной и периферической нервной системы. Многообещающие фундаментальные и клинические исследования ФРН определили новые области для возможного клинического использования ФРН и расширили спектр заболеваний, при которых могла бы принести пользу терапия на основе ФРН.

Учитывая столь большие различия концентраций ФРН по данным разных исследований как в структурах глаза, так и на системном уровне, большой интерес представляет изучение содержания ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови, а также установление соотношений содержания ФРН в указанных средах.

1.3. Глиальный нейротрофический фактор

В последнее время также возрос интерес исследователей в направлении изучения глиального нейротрофического фактора (ГНТФ, Glial cell-line derived neurotrophic factor, GDNF). Его важная роль в патогенезе различных нейродегенеративных заболеваний подчеркивается рядом экспериментальных работ [18, 19, 30].

ГНТФ был впервые описан как нейротрофический фактор, который стимулирует сохранение жизнедеятельности дофаминергических нейронов среднего мозга *in vitro* [112]. Подсемейство ГНТФ включает в себя, помимо ГНТФ, три других нейротрофических фактора: нейртурин (NRTN), артемин (ARTN) и персефин (PSPN) [17]. ГНТФ является мощным нейропротективным агентом, который действует на нейрональные клетки как центральной, так и периферической нервной системы.

ГНТФ представлен двумя формами: незрелой и зрелой [132]. Данный фактор синтезируется в виде молекулы белка-предшественника — pro-GDNF. Во время созревания происходит процесс гликозилирования белка и

образование гомодимера с помощью ковалентных дисульфидных связей [112]. Зрелая молекула ГНТФ имеет молекулярную массу 35 кДа и состоит из 134 аминокислот; именно в этой форме реализуются различные биологические функции данного нейротрофического фактора [8].

ГНТФ является мощным стимулятором выживания нейронов в центральной и периферической нервной системе. Было показано, что он оказывает влияние на ряд клеточных популяций, включая сенсорные и вегетативные ганглии, клетки Пуркинье мозжечка, нейроны гиппокампа, а также норадренергические, серотонинергические и холинергические нейроны.

Биологическая активность ГНТФ реализуется через рецептор с тирозинкиназной активностью Ret; однако для его функционирования требуется ассоциация с многокомпонентным рецепторным комплексом, называемым рецептором семейства ГНТФ ($GFR\alpha$) [17, 8].

Были идентифицированы четыре структурно родственных рецептора $GFR\alpha$ - $GFR\alpha1$, $GFR\alpha2$, $GFR\alpha3$ и $GFR\alpha4$, которые участвуют в связывании ГНТФ, нейротурина, артемина и персефина соответственно. Гомодимеры ГНТФ образуют высокоаффинный комплекс с $GFR\alpha1$, что приводит к агрегации двух молекул Ret и запускает ряд внутриклеточных сигнальных каскадов, которые, как полагают, играют важную роль в разрастании нейритов и выживании нейронов [8, 17].

В литературе представлено относительно немного данных о количественном содержании ГНТФ в организме человека: имеются единичные работы о содержании ГНТФ в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости, преимущественно у пациентов с неврологической патологией [160, 164, 161, 165, 38, 137, 172].

1.3.1. Роль глиального нейротрофического фактора в патогенезе неврологической патологии

В процессе эмбриогенеза ГНТФ необходим для нормального развития нервной системы, он способствует выживанию и дифференцировке различных популяций нейронов. Появляется все больше исследований, предполагающих участие ГНТФ в обеспечении пластичности нейронов и когнитивных функций [118, 141].

Было установлено, что передача сигналов ГНТФ серьезно нарушается в процессе старения, а также при болезни Альцгеймера, что приводит к снижению когнитивных функций [34]. В одном из последних исследований [155] было доказано, что снижение уровня ГНТФ в сыворотке крови достоверно коррелировало с тяжестью дегенеративного процесса при болезни Альцгеймера и когнитивными нарушениями. В неврологии в доклинических и клинических испытаниях изучалась возможность применения ГНТФ для лечения нейродегенеративных заболеваний; было отмечено, что данный нейротрофин обладает нейропротекторным действием [19, 18, 30].

ГНТФ влияет на развитие, функционирование и дифференцировку дофаминергических нейронов [112].

Болезнь Паркинсона — это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, клиническое течение которого характеризуется нарушением двигательных функций из-за прогрессирующей гибели отдельных популяций дофаминергических нейронов, особенно в *pars compacta* черной субстанции.

Эти наблюдения привели к серии клинических испытаний у пациентов с болезнью Паркинсона, включая использование биоинженерных конструкций с ГНТФ, а также нейртурина (NRTN). Тем не менее, убедительных данных, подтверждающих эффективность клинического применения ГНТФ получено не было [30].

Появляется все больше данных, свидетельствующие о вовлечении ГНТФ в патогенез психических нарушений, таких как биполярное расстройство личности, депрессия и шизофрения [161, 165].

В работе Tunca (2014) было установлено снижение уровня ГНТФ в сыворотке крови у пациентов с шизофренией. В другом исследовании авторы выявили повышение уровня ГНТФ в плазме у пациентов с биполярным расстройством личности [161].

1.3.2. Роль ГНТФ в патогенезе заболеваний органа зрения

1.3.2.1. Роль ГНТФ в патологии переднего отрезка глаза

В литературе представлено крайне мало данных об экспрессии ГНТФ в структурах глаза. Группой ученых было установлено, что ГНТФ и его рецепторы экспрессируются клетками стромы роговицы человека, а также что ГНТФ способствует пролиферации эпителия роговицы [174]. Это свидетельствует о том, что данный нейротрофин участвует в регуляции физиологических и патологических процессов глазной поверхности.

Ранее проводились лишь качественные исследования наличия или отсутствия ГНТФ и его рецепторов. Так, было показано наличие ГНТФ в слезе [148]. Во ВПК ГНТФ не был обнаружен, однако было выявлено наличие его рецепторов: GFR alpha-1, 2, 3, 4 [44].

Хорошо известно, что гомеостаз роговичного эпителия регулируется небольшой субпопуляцией эпителиальных стволовых клеток роговицы, расположенных в базальном эпителиальном слое лимба [57, 103]. Группой авторов было установлено, что ГНТФ и его рецепторы TrkA и GFR α -1 экспрессируются клетками лимбальной зоны роговицы [174]. Это позволяет предположить, что ГНТФ может играть важную роль в поддержании жизнедеятельности стволовых клеток эпителия роговицы в лимбальной зоне [76].

В экспериментальных работах проводилось исследование применения биоинженерных конструкций, содержащих клетки, экспрессирующие ГНТФ, для лечения заболеваний поверхности роговицы. Было показано, что использование таких конструкций увеличивает выживаемость стволовых клеток лимбальной зоны в эксперименте, что может помочь в разработке новых методов лечения лимбальной недостаточности [143].

Роговица является наиболее плотно иннервируемой тканью в организме человека и в основном снабжается сенсорными нервными волокнами. Нервные волокна роговицы экспрессируют множество нейромедиаторов, а также нейротрофических факторов, которые поддерживают гомеостаз роговичного эпителия и стимулируют заживление глазной поверхности. Результаты показывают, что экспрессия некоторых нейротрофинов - ФРН и ГНТФ - в эпителии роговицы демонстрирует значительные изменения во время регенерации нервных волокон. В экспериментальных работах было установлено, что блокада передачи сигналов ФРН и ГНТФ значительно ухудшает регенерацию нервных волокон роговицы [53].

Учитывая высокую распространенность заболеваний глазной поверхности, дальнейшие исследования нейротрофических факторов и, в частности, ГНТФ и его влияния на структуры переднего отрезка глаза могут помочь в разработке инновационных методов лечения данной группы заболеваний.

1.3.2.2. Роль ГНТФ в патологии заднего отрезка глаза и глаукомы

Имеются данные, свидетельствующие об экспрессии ГНТФ и его рецепторов в сетчатке [90], преимущественно клетками Мюллера [79]. Экспериментальные исследования указывают на потенциальную терапевтическую роль ГНТФ при патологии сетчатки и зрительного нерва. Так, было установлено, что он способствует выживанию фоторецепторов при применении *in vitro* и в ряде моделей на животных [88].

В настоящее время все больше исследований направлено на поиски методов лечения, обеспечивающих эффективную нейропротекцию при глаукоме, являющейся ведущей причиной необратимой слепоты во всем мире и характеризующейся прогрессирующей дегенерацией ганглиозных клеток сетчатки.

Среди других нейротрофических факторов, ГНТФ также привлек внимание ученых как потенциальный терапевтический агент в отношении поврежденных клеток сетчатки.

Тем не менее, несмотря на многообещающие результаты, пока все исследования ограничены лишь экспериментальными работами; данные о клиническом применении ГНТФ при заболеваниях сетчатки и зрительного нерва отсутствуют.

Flaschbarth с соавторами в 2018 году продемонстрировали, что интравитреальное введение стволовых клеток, секретирующих ГНТФ, стимулирует выживание ганглиозных клеток сетчатки после аксотомии [69]. Аналогичный эффект был получен для клеток, секретирующих цилиарный нейротрофический фактор (ЦНТФ), а совместное действие обоих типов клеток было существенно более выраженным.

В работе Jiang и соавт. (2007 г.) было установлено, что интравитреальное применение биodeградируемых микрочастиц,

содержащих ГНТФ, увеличивает выживаемость ганглиозных клеток сетчатки на модели глаукомы у крыс [85].

Все больше исследований направлено на изучение вопросов доставки ГНТФ к структурам заднего отрезка глаза.

Рядом авторов изучалась возможность применения ГНТФ с помощью биodeградируемых микросфер. В 2001 г. Chesa-Casalengua с соавторами в своем исследовании установили, что интравитреальная инъекция микросфер, содержащих ГНТФ, приводит к повышению выживания ганглиозных клеток сетчатки на модели глаукомы у крыс [40]. Garsia-Carabello с соавт. в 2017 г. доказали, что методика инкапсуляции ГНТФ в микросферы обеспечивает его долговременную доставку к структурам глазного дна [72]. Эти многообещающие результаты продемонстрировали, что биodeградируемые микросистемы можно рассматривать в качестве эффективного пути доставки ГНТФ при лечении хронических дегенеративных заболеваний органа зрения. Кроме того, поскольку активное вещество высвобождается вблизи целевых клеток-мишеней, количество повторных применений может быть значительно сокращено.

В литературе представлено крайне мало информации относительно количественного содержания ГНТФ в организме человека: имеются единичные работы о содержании ГНТФ в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости. В то же время отсутствуют данные о количественном содержании ГНТФ в глазу человека и СЖ. Несомненный интерес представляет изучение концентрации ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови.

1.4. Визуализация структур глазного дна у пациентов с помутнениями оптических сред глаза

Основным способом изучения содержания нейротрофических факторов внутри глаза у больных глаукомой является исследование влаги передней камеры, полученной в ходе операции экстракции возрастной катаракты. Для исключения неоправданных исследований оптимально уточнение диагноза глаукомы до операции, что возможно при неполном помутнении хрусталика. Основными методами уточнения диагноза и определения стадии глаукомы являются компьютерная (статическая) периметрия (КП) и ОКТ. Технология КП предусматривает ее проведение у пациентов с начальной и незрелой катарактой. В то же время, требует уточнения степень помутнения хрусталика, допускающая получение достаточно качественных сканов ОКТ.

Методика ОКТ была впервые описана в 1991 г. и внедрена в клиническую практику в 1997 г; в последнее десятилетие ОКТ стала наиболее часто используемой процедурой офтальмологической визуализации.

Принцип метода ОКТ основан на различной отражающей или рассеивающей способности структур глаза при воздействии светового пучка от когерентного источника света. На первых ОКТ-приборах использовалась методика временной (time-domain) ОКТ, имевшая невысокую скорость сканирования и ограниченную разрешающую способность [9].

Впоследствии были разработаны и представлены методики спектральной ОКТ (spectral-domain OCT) и ОКТ с перестраиваемой длиной волны (swept-source OCT, SS-OCT). В настоящее время современные приборы ОКТ обладают высокой скоростью сканирования (70-100 тыс. А-сканов/с), а разрешающая способность выросла до 5-8 $\mu\text{м}$. Таким образом,

стало возможным получение качественных прижизненных изображений структур глазного дна.

По мнению многих авторов, в настоящее время ОКТ стала «золотым стандартом» в диагностике заболеваний сетчатки и зрительного нерва, включая возрастную макулодистрофию, диабетическую ретинопатию, идиопатические макулярные разрывы, центральную серозную хориоретинопатию и др.

Анализ ОКТ-изображений во многом определяет тактику ведения пациентов с макулярным отеком различной этиологии и является критерием эффективности применения ингибиторов ангиогенеза.

Метод ОКТ позволяет провести количественную оценку слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) и параметров зрительного нерва, что делает ОКТ незаменимым исследованием в диагностике глаукомы, учитывая, что структурные изменения часто опережают дефекты поля зрения и другую симптоматику.

Целый ряд работ посвящен оценке изменений СНВС методом ОКТ у пациентов с глаукомой, где было отмечено, что анализ СНВС играет ведущую роль в диагностике прогрессирования глаукомы.

У пациентов с различной патологией заднего отрезка глаза крайне важным является правильная и точная оценка функционального состояния сетчатки и зрительного нерва методом ОКТ.

Тем не менее, в силу различных причин, визуализация структур глазного дна нередко бывает затруднена, что может существенно снижать качество изображений и точность измерений ОКТ [119, 29].

Согласно ряду исследований, на качество ОКТ-изображений и измерений влияет множество факторов, таких как сужение зрачка, старческий возраст, сниженная острота зрения, высокая миопия, а также помутнения оптических сред (патология роговицы, катаракта, изменения стекловидного тела, силикон в витреальной полости) [127, 107].

У пожилых людей катаракта является наиболее частой причиной непрозрачности оптических сред и как следствие влияет на качество изображений и измерений ОКТ [61, 151, 150]. Учитывая, что катаракта часто сопутствует патологии сетчатки и зрительного нерва, она может быть существенным препятствующим фактором при диагностике и последующем наблюдении пациентов методом ОКТ [87].

Рядом авторов было отмечено, что заднекапсулярные помутнения вызывают наибольшие изменения качества ОКТ-изображения [127, 166, 75]. Этот тип помутнения характеризуется особой плотностью и расположением в оптическом центре, что ухудшает светопропускание в большей степени, чем при других типах помутнения хрусталика.

В нескольких работах изучалось влияние фактомальсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы на показатели ОКТ у пациентов с близорукостью. Было установлено, что в первый день после операции параметры сетчатки, пСНВС и ДЗН, измеряемые методом ОКТ, изменяются весьма незначительно. Однако в это исследование были включены только пациенты с умеренными помутнениями хрусталика, сила сигнала прибора Cirrus HD-OCT до операции во всех случаях была не ниже 5.

ОКТ может оказать неоценимую помощь в диагностике целого ряда патологических состояний; тем не менее, существует ряд факторов, препятствующих получению качественных и информативных ОКТ-изображений и измерений, что требует выбора оптимальных критериев точности и надежности при проведении диагностического обследования методом ОКТ.

Таким образом, ФРН и ГНТФ обладают широким фармакологическим потенциалом в отношении заболеваний, затрагивающих как передний, так и задний отрезок глаза. На экспериментальных моделях глаукомы была доказана нейропротекторная роль ФРН и ГНТФ, выражавшаяся в повышении выживаемости ганглиозных клеток сетчатки. Тем не менее, в литературе представлены немногочисленные и противоречивые данные о содержании ФРН и ГНТФ в организме человека; остаются не изученными их концентрации во внутриглазных жидкостях, в том числе по мере утяжеления глаукомы. Основным способом изучения содержания нейротрофических факторов в глазу пациентов с глаукомой является анализ влаги передней камеры, полученной в ходе операции экстракции возрастной катаракты. Однако большие сложности представляет постановка диагноза глаукомы у больных с катарактой. В частности, требуется установление критериев, определяющих возможность проведения таких диагностических исследований как оптическая когерентная томография.

Изучение нейротрофических факторов у пациентов с глаукомой представляет большой интерес и в дальнейшем может помочь в разработке новых терапевтических стратегий лечения данного заболевания, в частности, путем их использования в целях нейропротекции. Актуальным является установление критериев, определяющих возможность диагностики глаукомы методом ОКТ у пациентов с помутнениями оптических сред глаза.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Общая характеристика материала исследования

Данное исследование основано на анализе клинико-функциональных и клинико-лабораторных методов исследования 166 пациентов (166 глаз) с возрастной катарактой и первичной открытоугольной глаукомой (Таблица 2-1).

Таблица 2-1 – Дизайн исследования

Раздел исследований	Пациенты с возрастной катарактой без ПОУГ	Пациенты с возрастной катарактой в сочетании с ПОУГ	Здоровые испытуемые	Всего
Отработка методик			11	11
Анализ ФРН	47	25		72
Анализ ГНТФ	47	30		77
Параметры ОКТ	83			83
Всего	123	32	11	166

Примечание: большинство испытуемых принимали участие в 2-3 разделах работы.

Некоторые пациенты вошли одновременно в несколько разделов работы, в частности, исследования ФРН и ГНТФ в основном выполнялись у одних и тех же испытуемых.

Отбор пациентов осуществляли сплошным методом в период с сентября 2018 года по апрель 2021 года.

Кроме того, на слезной жидкости 11-ти здоровых добровольцев проводилась отработка методик определения содержания нейротрофических факторов.

У каждого человека в анализ включали только один глаз, на котором проводилось хирургическое вмешательство.

Существенную долю материала исследования составили пациенты, у которых катаракта сочеталась с ПОУГ различной степени выраженности. Диагноз ПОУГ устанавливали по результатам комплексного обследования, включавшего наряду с традиционными методами дополнительные инструментальные методы диагностики. Длительность течения глаукомы от момента постановки диагноза составляла от 6-ти до 120-ти месяцев (в среднем $60,56 \pm 42,7$ месяцев). Микроинвазивная непроникающая глубокая склерэктомия была выполнена ранее у 20 пациентов, из них у 11-ти дополнена в последующем лазерной десцеметогониопунктурой. У 7 пациентов ранее были выполнены лазерные антиглаукомные операции. Все операции были проведены не ранее, чем за 3 месяца до операции факоэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы (ФЭК+ИОЛ). Гипотензивную терапию применяли 26 человек; из них 21 человек инстиллировал β -блокаторы, значительно меньшая доля (4 и 11 человек) – аналоги простагландинов и ингибиторы карбоангидразы соответственно. Из них 9 человек применяли два и более вида препаратов, в том числе комбинированные.

Также была проведена комплексная клинико-лабораторная диагностика 62 пациентов с возрастной катарактой, которым была выполнена операция ФЭК+ИОЛ.

Отдельным разделом данной работы было определение оптимальных критериев надежности результатов измерений количественных показателей ОКТ у пациентов с катарактой, с целью чего было обследовано 83 пациента (83 глаза) с возрастной катарактой до и после ФЭК+ИОЛ.

Критериями включения для всех пациентов были: возраст старше 55 лет, длина глаза менее 26 мм, неосложненная операция ФЭК+ИОЛ, истинное ВГД не выше 21 мм рт. ст.

Критериями исключения были: терминальная глаукома, тяжелая сопутствующая глазная патология (дегенеративные заболевания сетчатки, увеиты, атрофия зрительного нерва и др.), рефракционные нарушения высоких степеней, офтальмологические вмешательства в последние 3 месяца перед операцией, а также соматические заболевания (сахарный диабет, бронхиальная астма, аутоиммунные, онкологические заболевания и другая серьезная соматическая патология), отсутствие которых подтверждалось опросом, исследованием соматического статуса и анализом данных медицинской документации. Допускались отдельные сопутствующие заболевания в начальных стадиях, такие как гипертоническая болезнь 1-2 стадии, мерцательная аритмия, стенокардия напряжения I-II функционального класса и т.п. У всех обследуемых лиц сопутствующая патология находилась в стадии компенсации.

2.2. Клинико-функциональные методы исследования

Перед проведением объективного обследования глаза у всех пациентов был собран анамнез, включавший сбор информации по поводу жалоб, времени возникновения и динамики течения заболевания, наличия сопутствующих заболеваний, а также предшествующих офтальмологических вмешательств и травм глаз.

Всем пациентам, вошедшим в данное исследование, проводили комплексное офтальмологическое обследование, включающее авторефрактометрию, визометрию без коррекции и с коррекцией, периметрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, ультразвуковую эхобиометрию и В-сканирование, оптическую биометрию. Пациентам с ПОУГ проводилась тонография, гониоскопия, компьютерная периметрия (КП) и спектральная оптическая когерентная томография (ОКТ).

Отдельным пациентам с возрастной катарактой дополнительно проводилась спектральная оптическая когерентная томография (ОКТ), денситометрия хрусталика, а также биомикроскопическая оценка степени плотности катаракты по упрощенной системе ВОЗ.

Визометрию проводили без коррекции и с максимальной очковой коррекцией с помощью проектора знаков и фороптера АСР-5 фирмы Торсон (Япония).

Автокераторефрактометрию выполняли на аппаратах Nidek ARK-710A, Торсон KR-8100 (Япония) в естественных условиях.

Кинетическую периметрию проводили на проекционном периметре АППЗ-01 (Россия) или дуговом периметре ПРП-60 (Россия) по общепринятой методике.

Тонометрию выполняли на пневмотонометре СТ-800 фирмы «Торсон» (Япония).

Тонографию выполняли по показаниям пациентам с глаукомой при помощи компрессионного тонографа ТНЦ-100 (Россия) в течение 4 минут.

Биомикроскопию переднего отрезка глаза проводили с использованием щелевой лампы модели SL-120 фирмы «Carl Zeiss Meditec AG» (Германия).

Гониоскопию проводили пациентам с глаукомой с помощью 4-х зеркальной гониолинзы для оценки степени открытия угла передней камеры.

Офтальмоскопию выполняли при достаточной прозрачности сред переднего отрезка глаза с помощью линзы «Double Aspheric» 78 дптр фирмы «VOLK» (США). Оценивали состояние диска зрительного нерва (цвет, границы, глубину и величину экскавации, сдвиг сосудистого пучка, наличие перипапиллярной хориоретинальной атрофии), состояние макулярной зоны, калибр и ход сосудов глазного дна, световые рефлексы.

Ультразвуковое В-сканирование выполняли с помощью аппарата «Eye Cubed» (Ellex Inc., Австралия) для оценки состояния стекловидного тела и структур заднего отрезка глаза.

Ультразвуковую биометрию проводили на приборе Tomey AL-3000 (Япония) для измерения длины переднезадней оси глаза, глубины передней камеры глаза, толщины хрусталика.

Оптическую биометрию выполняли на аппарате IOL Master 700 (Carl Zeiss Meditec). Определяли основные кератометрические показатели, длину переднезадней оси глаза.

Спектральную ОКТ производили на аппарате «Cirrus HD-OCT 5000» фирмы «Carl Zeiss Meditec AG» (Германия); осуществляли сканирование области ДЗН по протоколу «Optic Disc Cube 200x200» с последующим анализом, который выполняли по протоколу «ONH and RNFL OU Analysis», а также макулярной области по протоколу «Macular Cube 512x128» с

последующим анализом слоя ганглиозных клеток по протоколу «Ganglion Cell OU Analysis» (программное обеспечение версии 8.1.0.117).

Компьютерную периметрию проводили на периметре Humphrey Field Analyzer II (Carl Zeiss Meditec Inc.) по программе «24-2 SITA Standard». Пациентам, которым не удавалось провести обследования до операции ввиду выраженных помутнений хрусталика, проводили компьютерную периметрию не ранее, чем через два дня после ФЭК+ИОЛ. Если отсутствовали данные проведенных ранее исследований или они были недостаточного качества, периметрию проводили повторно до получения повторяемых результатов. Результаты КП у пациентов с ПОУГ были оценены согласно критериям классификации Mills et al. [122]. Одним из существенных ее отличий от более распространенной классификации Hodapp-Anderson-Parrish является деление продвинутой (далекозашедшей) стадии на две с выделением стадии тяжелой глаукомы.

Денситометрию хрусталика проводили на аппарате Pentacam HR (Oculus) с целью определения оптической плотности хрусталика.

Статистическую обработку проводили с использованием программ Excel (Microsoft) и Statistica 13 (TIBCO Software Inc.). Для оценки нормальности распределения использовали критерий Колмогорова-Смирнова. Нормально распределенные данные представлены в формате $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – среднеквадратическое отклонение. Показатели с распределением, отличным от нормального, и порядковые показатели были представлены в виде медианы с указанием интерквартильного размаха — Me (ИКР). Сравнение количественных признаков в двух группах выполняли с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок, в трех группах методом однофакторного дисперсионного анализа с последующим попарным сравнением с

использованием критерия Тьюки для коррекции эффекта множественных сравнений.

Соотношения количественных признаков оценивали методами линейной регрессии и корреляционного анализа по Пирсону. Зависимость при коэффициенте корреляции r (по абсолютной величине) 0,2-0,39 считалась слабой, 0,4-0,59 – умеренной, 0,6-0,79 – сильной [36]. Статистически значимым считали уровень $P < 0,05$.

Значение различных показателей как критериев надежности измерений определяли с помощью ROC-анализа (receiver operating characteristic – ROC). Для оценки характеристических (ROC) кривых рассчитывали площадь под ROC-кривой (area under the curve – AUC), которая может изменяться в диапазоне от 0,5 (полное отсутствие информативности показателя) до 1,0 (максимальная информативность). Также определяли оптимальную пороговую величину показателя (точку отсечения), соответствующую максимальным уровням чувствительности и специфичности.

2.3. Клинико-лабораторные методы исследования

2.3.1. Описание и подготовка биологического материала, взятого для исследования

Для определения нейротрофических факторов в сыворотке крови (СК) использовали периферическую кровь, взятую натошак из локтевой вены в стерильных условиях в количестве 5 мл. Для получения сыворотки образцы крови центрифугировали со скоростью 3000 об/мин в течение 15-ти минут, затем сыворотку аликвотировали в стерильные пробирки типа эппендорф объеме не менее 500 мкл, замораживали и хранили при температуре ниже $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения иммуноферментного анализа. Непосредственно перед анализом все исследуемые образцы и компоненты тест-системы прогревали до комнатной температуры.

Для определения нейротрофических факторов в слезной жидкости (СЖ) использовали стимулированную слезу, взятую в день перед операцией в количестве 100-150 мкл из нижнего конъюнктивального свода пипеточным дозатором.

Для определения нейротрофических факторов во влаге передней камеры (ВПК) использовали влагу, взятую из передней камеры сразу после парацентеза роговицы с помощью канюли на инсулиновом шприце в объеме 100-120 мкл, во время проведения факоэмульсификации катаракты.

Образцы СЖ и ВПК помещали в стерильные пробирки типа эппендорф, замораживали и хранили при температуре ниже $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения лабораторного анализа.

Непосредственно перед проведением лабораторного тестирования биологический материал размораживали, прогревали до комнатной температуры, центрифугировали в течение 10-ти минут со скоростью 4000 об/мин., а затем разводили в 4 раза раствором PBS, поскольку собранное у пациентов количество СЖ и ВПК не всегда было достаточным для

полноценного иммуноферментного анализа (ИФА) образцов выбранными тест-системами.

2.3.2. Определение ФРН в биологических жидкостях человека

Концентрацию ФРН в исследуемых образцах СК, СЖ, ВПК определяли в дубле методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы QuantikineElisa (Cloud-Clone corp., США) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США) согласно инструкции, предложенной фирмой производителем тест-системы.

Для построения калибровочного графика использовали разведения стандартного образца ФРН в концентрациях: 1000 пг/мл, 500 пг/мл, 250 пг/мл, 125 пг/мл, 62,5 пг/мл, 31,2 пг/мл, 15,6 пг/мл.

Чувствительность метода (минимальная определяемая концентрация ФРН в образце) по данным фирмы-производителя составляла 5,4 пг/мл.

При разведении СЖ и ВПК в 4 раза, значения концентрации ФРН попадали в линейную область калибровочного графика.

Полученные результаты умножали на коэффициент разведения биологического материала.

2.3.3. Определение ГНТФ в биологических жидкостях человека

Определение концентрации ГНТФ в исследуемых образцах СК, СЖ, ВПК определяли в дубле методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы RayBio® Human GDNF ELISA (Ray Biotech, США) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США) согласно инструкции, предложенной фирмой производителем тест-системы.

С целью увеличения содержания свободной формы ГНТФ в вышеуказанном биологическом материале и повышения его доступности для определения методом твердофазного ИФА проводили предварительную кислотную обработку образцов по методике, предложенной Okragly A.J., Naak-Frendscho M в 1997 году [133].

Для построения калибровочного графика использовали разведения стандартного образца ГНТФ в концентрациях: 2000 пг/мл, 666,7 пг/мл, 222,2 пг/мл, 74,07 пг/мл, 24,69 пг/мл, 8,23 пг/мл, 2,74 пг/мл.

Чувствительность метода (минимальная определяемая концентрация ГНТФ в образце) составляла 4 пг/мл.

Воспроизводимость калибровочных кривых и контрольных материалов соответствовала показателям, заявленным производителем.

При разведении СЖ и ВПК в 4 раза, значения концентрации ГНТФ попадали в линейную область калибровочного графика.

Полученные результаты умножали на коэффициент разведения биологического материала.

Данный раздел работы выполнялся на базе лаборатории ГБУЗ «НПЦ им. З. П. Соловьева ДЗМ» к.б.н. Дружковой Т.А. под руководством и контролем профессора, д.б.н. Гуляевой Н.В., которым автор выражает искреннюю признательность за выполнение и помощь в проведении исследования.

Глава 3. КРИТЕРИИ НАДЕЖНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ

В данном исследовании крайне важным являлся тщательный отбор пациентов и уточнение диагноза глаукомы на дооперационном этапе для исключения проведения в дальнейшем неоправданных исследований – забора слезной жидкости, влаги передней камеры и сыворотки крови, лабораторной диагностики и т. д.

Как известно, в настоящее время ОКТ является основным методом диагностики глаукомы, особенно на ранних стадиях, когда дефекты поля зрения могут быть не столь выраженными или отсутствовать. Также данная методика позволяет исключить сопутствующие патологические состояния глазного дна, способные повлиять на содержание нейротрофических факторов в биологических жидкостях и тем самым внести погрешность при дальнейшем анализе.

Учитывая, что катаракта оказывает существенное влияние на качество измерения СНВС и других параметров, требует уточнения степень помутнения хрусталика, допускающая получение достаточно надежных измерений ОКТ.

Целью данного раздела исследования явился анализ результатов измерения плотности хрусталика различными методами и определение оптимальные критериев надежности измерений количественных показателей ОКТ у пациентов с возрастной катарактой. Для решения поставленной цели было выполнено сравнение нескольких показателей оптической плотности хрусталика, а именно силы сигнала ОКТ, определяемой самим прибором (Cirrus HD-ОСТ), данных денситометрии и биомикроскопии.

3.1. Результаты измерения оптической плотности хрусталика различными методами

3.1.1. Оптическая когерентная томография

Проведено обследование 83 пациентов (83 глаз) до и после операции ФЭК+ИОЛ. Критерием включения была возрастная катаракта, позволяющая получить ОКТ-изображения структур глазного дна. Критериями исключения были неустойчивая фиксация, серьезная сопутствующая офтальмологическая и соматическая патология. У всех пациентов оценивали только один глаз с наибольшей плотностью катаракты, на котором проводили ФЭК+ИОЛ в первую очередь.

Помимо традиционных методов обследования, за 1-2 дня до операции выполняли спектральную ОКТ по общепринятой методике на приборе Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec). Исследование области диска зрительного нерва (ДЗН) выполняли по протоколу «Optic Disc Cube 200x200» с обработкой данных по протоколу «ONH and RNFL OU Analysis». Наибольшее значение придавали средней толщине пСНВС (Average RNFL Thickness). Сканирование макулярной области осуществляли по протоколу «Macular Cube 512x128» с последующим анализом толщины сетчатки «Macular Thickness Analysis». Наибольшее значение придавали средней толщине сетчатки в фовеальной зоне диаметром 1 мм.

Дооперационное измерение считали надежным, если отличие от послеоперационного измерения не превышало предел повторяемости / воспроизводимости. По литературным данным, для средней толщины пСНВС этот предел составляет 4-5 $\mu\text{м}$ [14, 13, 157], для фовеальной зоны по данным [78] – 7-8 $\mu\text{м}$. В настоящей работе как допустимый использовали предел повторяемости / воспроизводимости 5 $\mu\text{м}$ для пСНВС и 8 $\mu\text{м}$ для фовеальной зоны.

Выраженность помутнения хрусталика оценивали по силе сигнала ОКТ, определяемой самим прибором Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec), данным денситометрии и биомикроскопии.

3.1.2. Денситометрия хрусталика на приборе Pentacam HR

Денситометрию хрусталика у всех пациентов выполняли после расширения зрачка за 1 сутки до операции на приборе Pentacam HR (Oculus). Метод сбора данных при измерении основан на работе ротационной Шаймпфлюг-камеры, при этом в ходе измерения анализируется 50 Шаймпфлюг-изображений и 25 000 элевационных точек.

С помощью данного метода также оценивали основные кератотопографические показатели, пахиметрию в разных зонах роговицы, глубину передней камеры, угол передней камеры для исключения возможных патологических состояний (Рисунок 3-1).

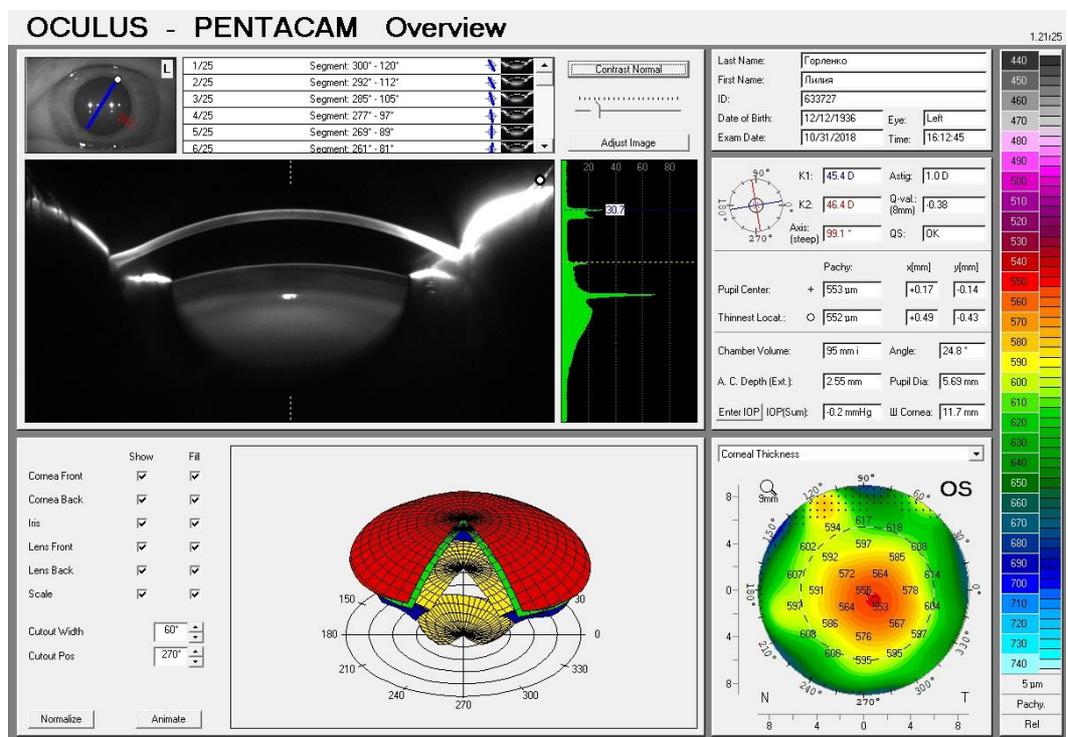


Рисунок 3-1 – Основные диагностические показатели переднего отрезка глаза прибора Pentacam

Также с помощью данного метода проводили оценку средней и максимальной оптической плотности хрусталика на основе встроенного программного обеспечения по шкале от 0 (отсутствие помутнения) до 100 (полностью непрозрачный хрусталик), а также стадии катаракты (Pentacam Nucleus Staging, от 0 до 5) на основе значений денситометрии в трех измерениях (Рисунки 3-2, 3-3).

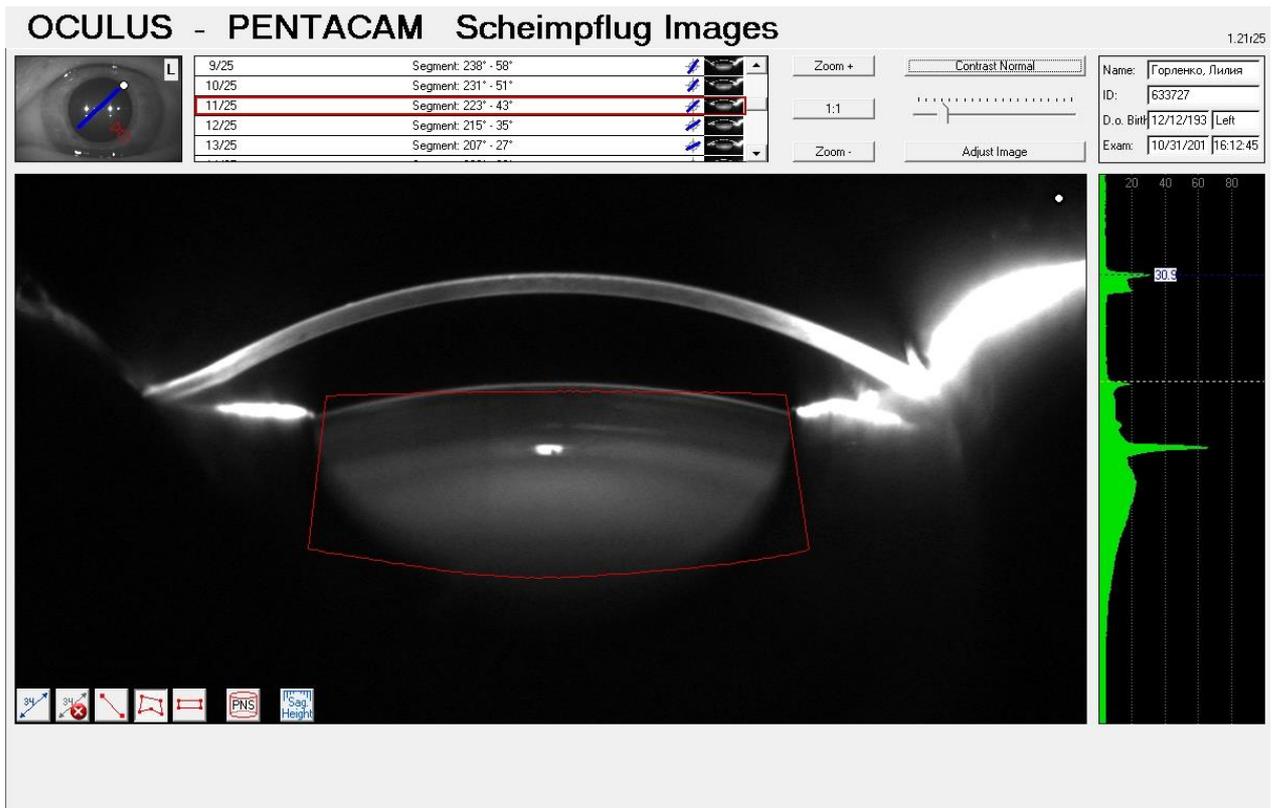


Рисунок 3-2 – Шеймпflug-изображение хрусталика на приборе Pentacam

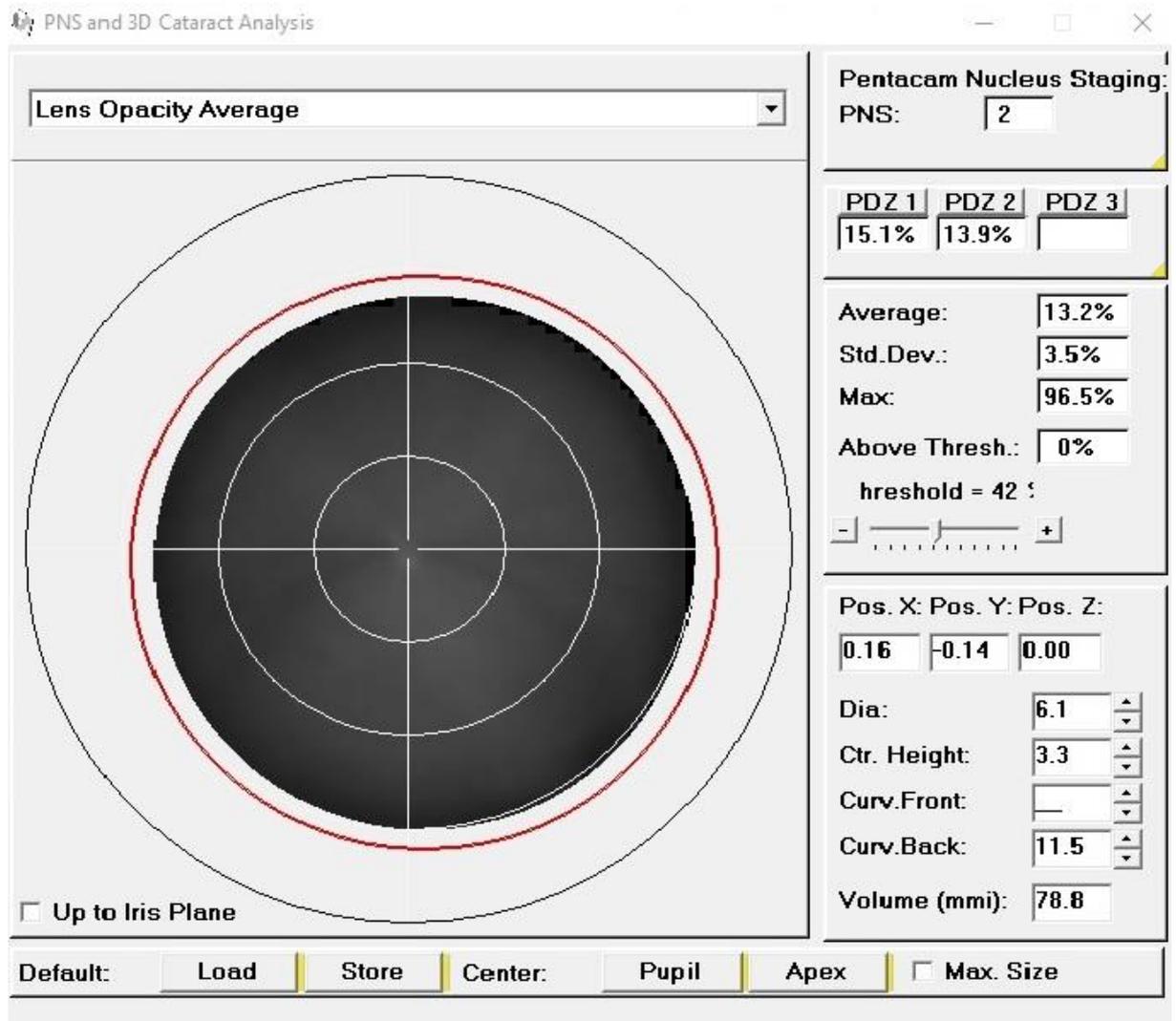


Рисунок 3-3 – Интерфейс Pentacam Nucleus Staging для анализа плотности хрусталика

3.1.3. Клиническая оценка оптической плотности хрусталика

Биомикроскопическую оценку плотности катаракты проводили по упрощенной системе ВОЗ [162].

Согласно данной методике, плотность катаракты определяется при проведении биомикроскопии путем сравнения помутнения различных слоев хрусталика со стандартными фотографиями (Рисунок 3-4). При этом отдельно оценивается степень помутнения ядра, кортикальных слоев и задней капсулы хрусталика в баллах от 0 до 3.

В данном исследовании вычисляли также суммарное помутнение всех слоев хрусталика как сумму баллов.

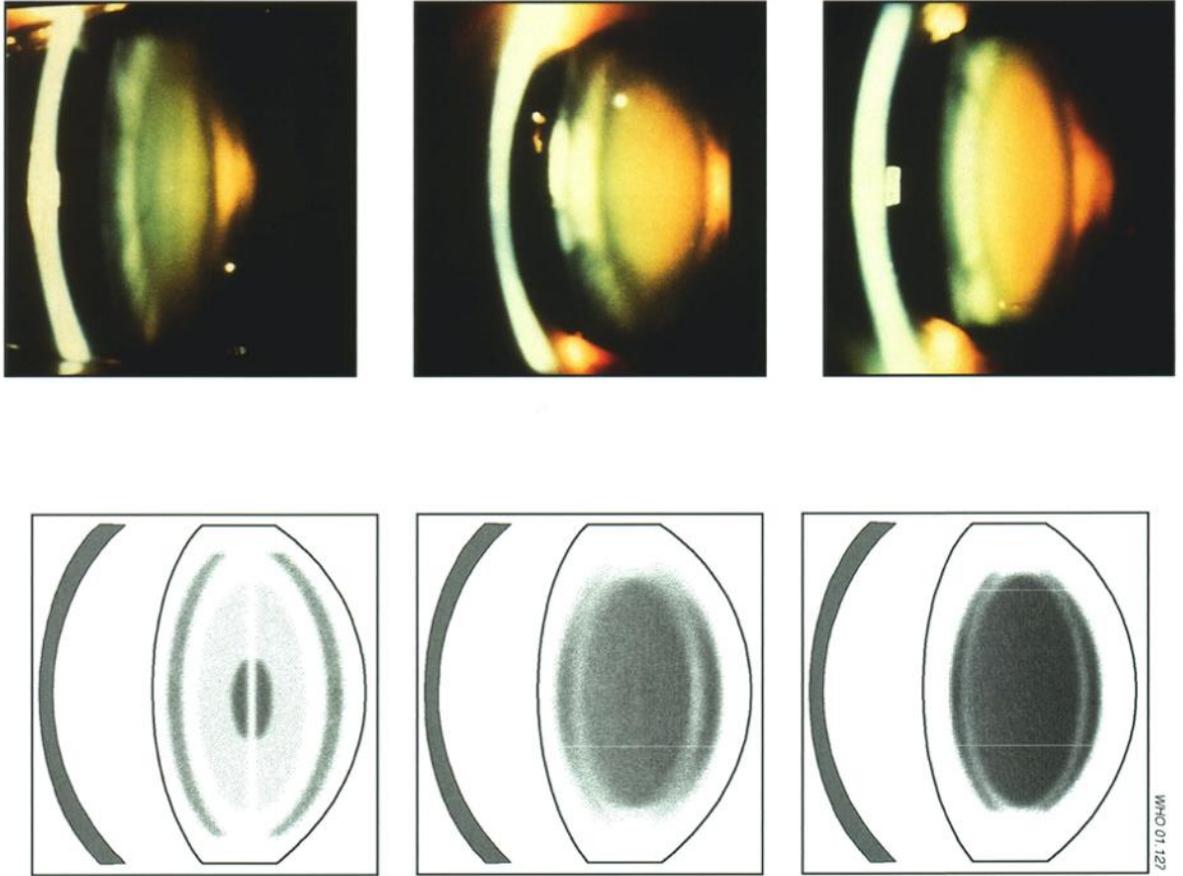


Рисунок 3-4 – Стандартные фотографии ядерной катаракты 1, 2 и 3 степеней плотности согласно системе WHO Cataract grading system

3.2. Операция и послеоперационное обследование пациентов: оптическая когерентная томография

Всем пациентам была выполнена операция ФЭК+ИОЛ по стандартной методике на факоемульсификационной машине «Infinity» или «Centurion» (Alcon, США). Все пациенты были оперированы одним опытным хирургом и отобраны сплошным методом. Имплантировали заднекамерные гидрофобные ИОЛ с капсульной фиксацией. Все операции не сопровождались какими-либо интра- и послеоперационными осложнениями.

На следующий день после операции острота зрения с коррекцией во всех случаях составила не менее 0,5.

После операции всем пациентам также выполняли спектральную ОКТ по общепринятой методике на приборе Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec) с исследованием макулярной зоны и области зрительного нерва.

Количественные характеристики показателей, изученных в качестве возможных критериев надежности измерений ОКТ, представлены в таблице 3-1.

Таблица 3-1 – Показатели, изученные в качестве возможных критериев надежности измерений ОКТ

Метод исследования, показатель	Значения
Оптическая когерентная томография	
Сила сигнала для области диска зрительного нерва, $M \pm \sigma$ (Мин – Макс)	5,1 \pm 2,0 (0 – 10)
Сила сигнала для макулярной зоны, $M \pm \sigma$ (Мин – Макс)	5,6 \pm 1,8 (0 – 9)
Денситометрия Шеймпфлюг-изображений	
Средняя оптическая плотность хрусталика, $M \pm \sigma$ (Мин – Макс)	14,6 \pm 5,7 (9,0 – 41,9)
Максимальная оптическая плотность хрусталика, $M \pm \sigma$ (Мин – Макс)	54,0 \pm 23,4 (23,1 – 100,0)
Стадия катаракты (Pentacam Nucleus Staging), Me (ИКР)	2 (1 – 2)
Биомикроскопия	
Помутнение ядра, Me (ИКР)	2 (1 – 3)
Помутнение кортикальных слоев, Me (ИКР)	2 (1 – 2)
Помутнение задней капсулы, Me (ИКР)	0 (0 – 1)

Me (ИКР) – медиана (интерквартильный размах)

Как видно из таблицы, для максимальной представительности в исследование были включены пациенты как с небольшими, так и с выраженными помутнениями хрусталика.

Проведенный ROC-анализ выявил существенные преимущества показателя силы сигнала, определяемого самим прибором, по сравнению с другими изученными критериями. Так, для толщины пСНВС, величина AUC составила 0,815 (95% доверительный интервал (ДИ): 0,720-0,909). При этом наилучшее пороговое значение силы сигнала прибора, позволяющее получать надежные данные пСНВС, составило 5,5 (чувствительность 0,640, специфичность 0,848).

Для измерения толщины сетчатки в фовеальной зоне значение AUC силы ОКТ-сигнала составило 0,756 (95% ДИ: 0,632-0,880) (Рисунок 3-5). Оптимальный порог силы ОКТ-сигнала для корректного измерения сетчатки в фовеальной зоне составил 4,5 (чувствительность 0,893, специфичность 0,555). Учитывая, что сила сигнала измеряется только в целых числах, на практике наименьшее значение силы сигнала прибора, позволяющее получать достоверные данные, составляет 6 для пСНВС и 5 для толщины сетчатки в фовеальной зоне.

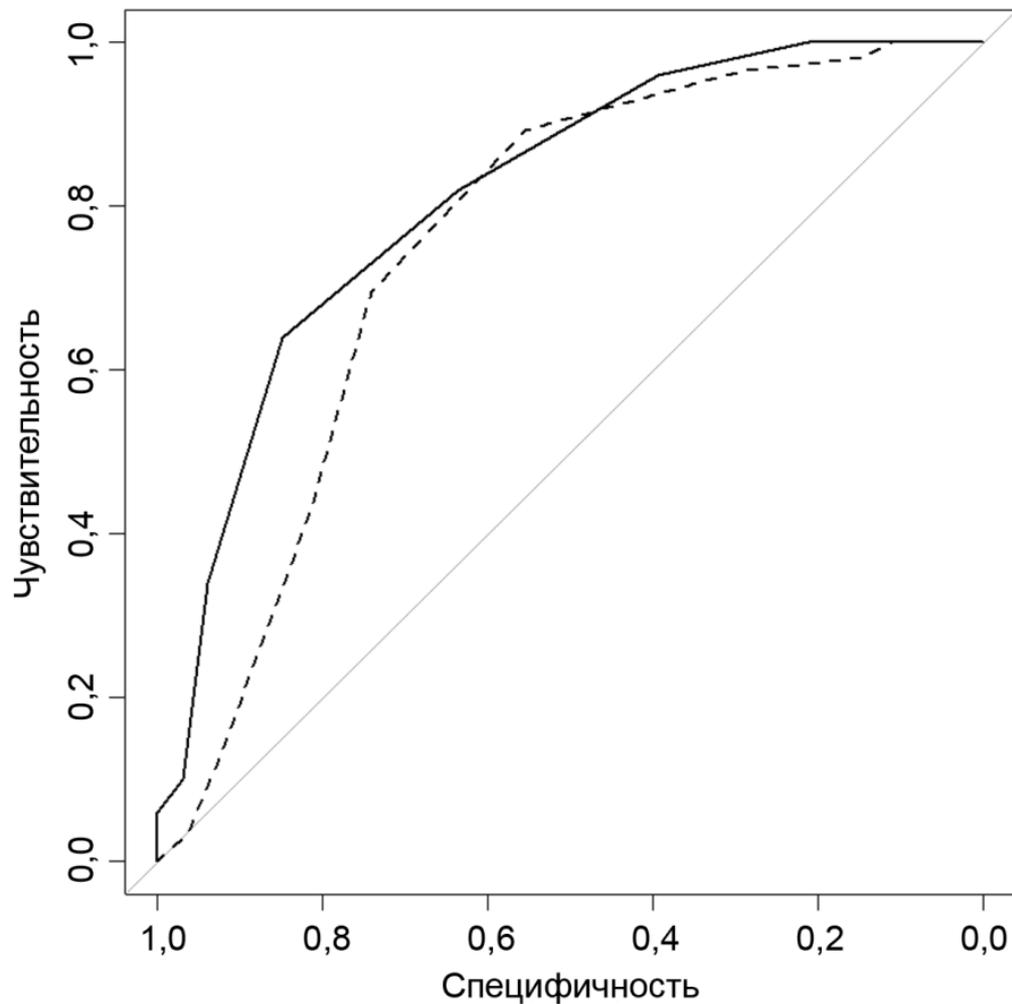


Рисунок 3-5 – Характеристические (ROC) кривые классификации надежности измерений оптической когерентной томографии по изменениям средней толщины пСНВС (сплошная линия) и толщины сетчатки в фовеальной зоне (пунктирная линия).

Остальные изученные параметры как для пСНВС, так и для толщины сетчатки в фовеальной зоне имели AUC менее 0,6, что было близким к уровню случайности.

Следует особо отметить, что по результатам проведенного ROC-анализа, биомикроскопия хрусталика не позволяет с достаточной точностью прогнозировать возможность надежного проведения измерений

методом ОКТ (AUC для всех параметров был близок к 0,5) и на нее нельзя ориентироваться при оценке результатов ОКТ.

Определенным исключением служит только выраженная (3 балла) заднекапсулярная катаракта (Рисунок 3-6).

Этот тип помутнения характеризуется особой плотностью и расположением в оптическом центре, что ухудшает светопропускание в большей степени, чем при других типах помутнения хрусталика.

В настоящей работе было обнаружено, что заднекапсулярные катаракты значительно снижают надежность измерений ОКТ, особенно в фовеальной области. Из 7 таких глаз измерения толщины сетчатки в фовеальной зоне не были надежными в 5 случаях, измерения пСНВС – в трех.

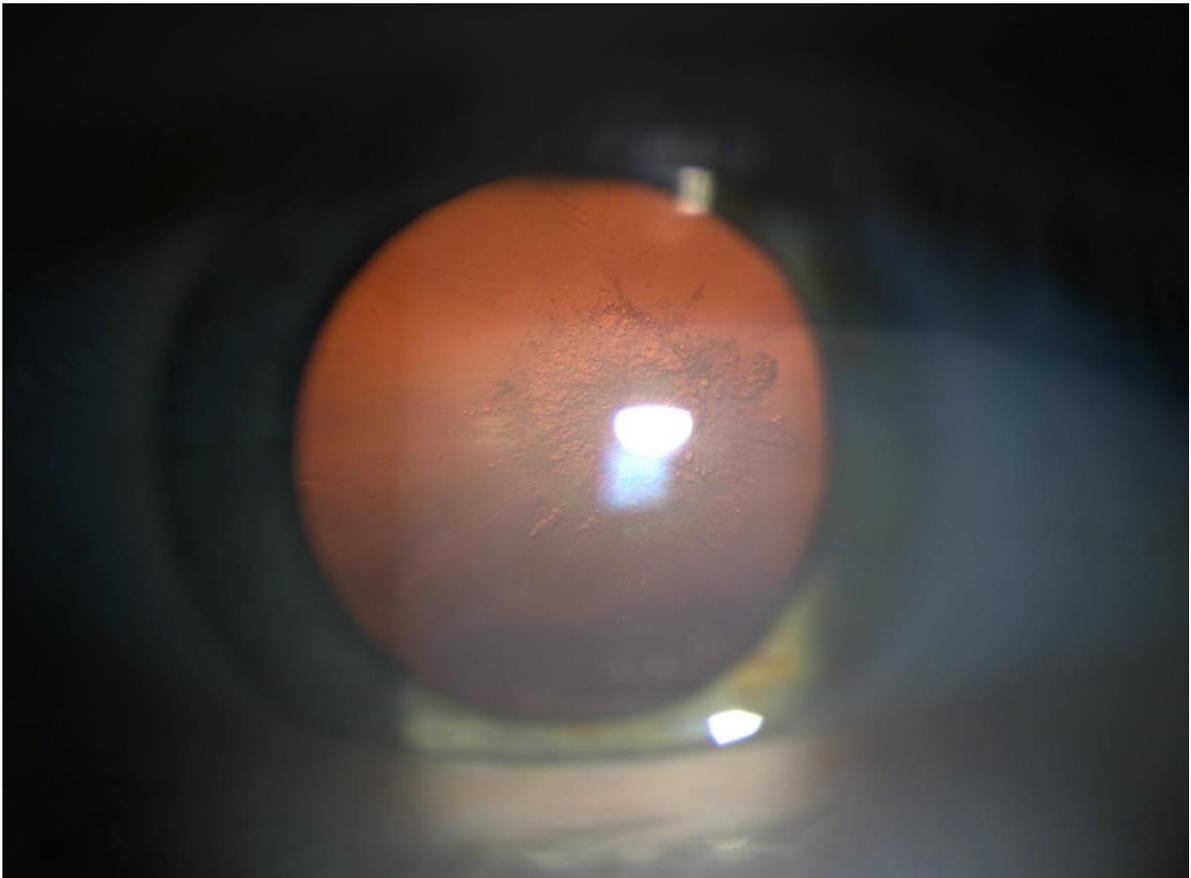


Рисунок 3-6 – Помутнение задней капсулы хрусталика

Таким образом, у пациентов с возрастной катарактой критериями надежности измерений структур глазного дна методом ОКТ могут служить только собственные данные прибора (сила ОКТ-сигнала). Наименьшее значение силы сигнала, позволяющее получать надежные данные на приборе Cirrus HD-ОКТ, составляет 6 для пСНВС и 5 для толщины сетчатки в фовеальной зоне.

Показатели денситометрии хрусталика на приборе Pentacam HR и клиническая оценка степени помутнения хрусталика мало информативны в качестве критериев надежности измерений ОКТ. Исключением является обнаружение при биомикроскопии выраженной заднекапсулярной катаракты, что будет указывать на ненадежность измерений ОКТ при обследовании данным методом.

Глава 4. ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ И ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ

Как уже было отмечено ранее в обзоре литературы, по данным разных исследований выявлены большие различия концентраций ФРН как в структурах глаза, так и на системном уровне. Крайне мало информации представлено относительно количественного содержания ФРН в глазу человека.

Учитывая столь противоречивые данные, большой интерес представляет изучение содержания ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови, а также установление соотношений содержания ФРН в указанных средах.

Целью данной главы явилось изучение содержания фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой без и в сочетании с возрастной катарактой, для чего были выполнены клинико-лабораторные исследования фактора роста нервов в указанных биологических жидкостях. Были также изучены соотношения данного нейротрофина в указанных средах.

4.1. Содержание ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с возрастной катарактой

Проведено клинико-лабораторное обследование 47 пациентов (47 глаз), оперированных по поводу возрастной катаракты. Средний возраст больных составил $73,2 \pm 7,8$ лет (от 57 до 86 лет), из них 19 мужчин и 28 женщин. Длина переднезадней оси оперированных глаз составила в среднем $23,49 \pm 0,80$ (от 21,94 до 25,41) мм. Критериями исключения были любая серьезная соматическая и офтальмологическая патология, рефракционные нарушения высоких степеней.

Плотность катаракты оценивали по упрощенной системе ВОЗ [162]. Всем пациентам была выполнена операция ФЭК+ИОЛ по стандартной методике; интра- и послеоперационные осложнения отсутствовали. На следующий день после операции острота зрения с коррекцией во всех случаях составила не менее 0,6.

Сравнение содержания ФРН в СЖ, ВПК и СК у мужчин и женщин не выявило статистически значимых различий. Также не было установлено зависимости содержания ФРН в изучаемых биологических жидкостях от степени плотности катаракты. Это позволило проводить дальнейший анализ без учета различий по указанным признакам.

Данные о содержании ФРН в СЖ, ВПК, СК и соотношения концентраций ФРН в изучаемых биологических жидкостях представлены в таблице 4-1.

Таблица 4-1 – Концентрация фактора роста нервов в изучаемых биологических жидкостях (пг/мл), $M \pm \sigma$ (Мин-Макс), $n=47$

Исследуемая биологическая жидкость	Концентрация ФРН
Слезная жидкость*	$85,3 \pm 23,3$ (36,6 - 135,9)
Влага передней камеры	$27,6 \pm 12,8$ (2,7 - 56,1)
Сыворотка крови	$23,2 \pm 8,9$ (5,9 - 41,6)
Соотношение ВПК/СЖ	$0,33 \pm 0,14$ (0,04 - 0,63)
Соотношение ВПК/СК	$1,32 \pm 0,82$ (0,22 - 4,35)

* Исключено 1 выпадающее значение

СЖ – слезная жидкость

ВПК – влага передней камеры

СК – сыворотка крови

Как видно из таблицы 4-1, содержание ФРН было наиболее высоким в СЖ; концентрации ФРН в СК и ВПК были более чем в три раза ниже.

Методом корреляционного анализа установлено, что уровень ФРН во ВПК достоверно коррелировал только с его содержанием в СЖ: коэффициент корреляции Пирсона $r=0,526$, $P<0,000$ (Рисунок 4-1). Корреляция концентраций ФРН в СК и ВПК была в 2 раза слабее ($r=0,251$) и не значима.

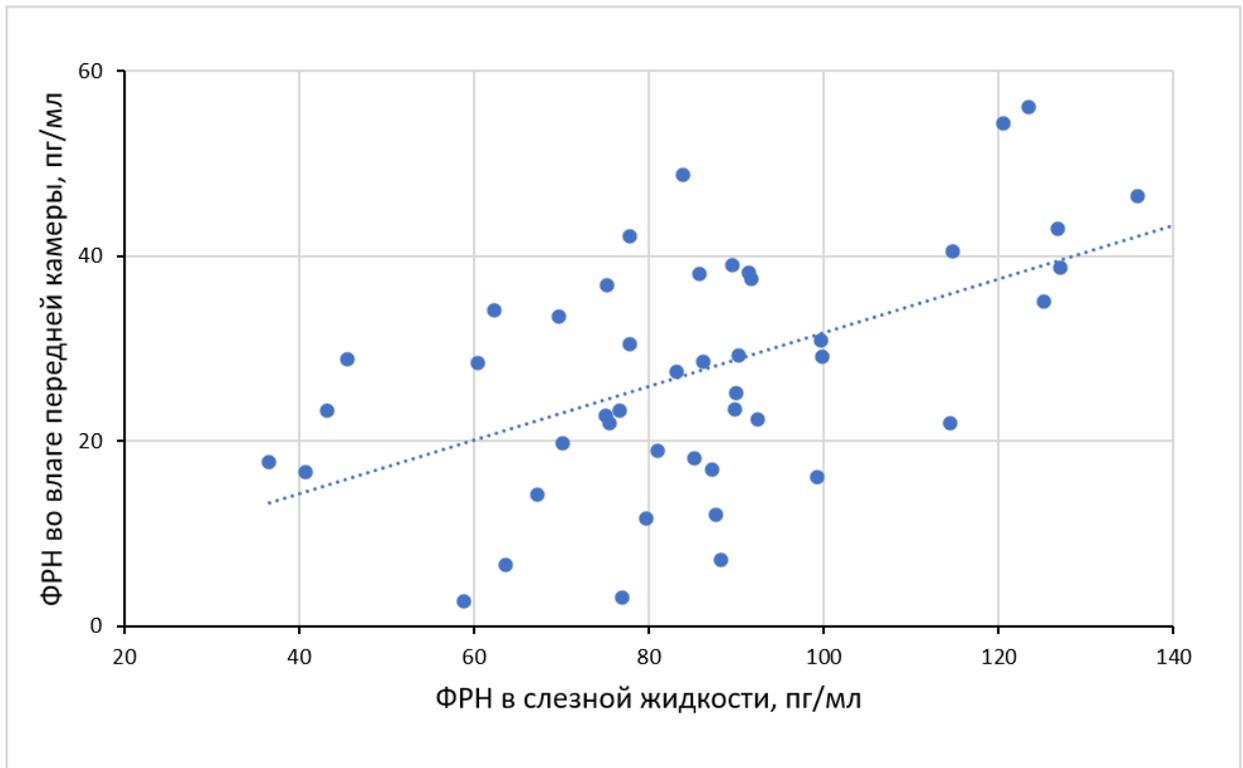


Рисунок 4-1 – Зависимость содержания фактора роста нервов во влаге передней камеры от его уровня в слезной жидкости

Таким образом, у пациентов с возрастной катарактой наиболее высокий уровень ФРН определяется в СЖ, концентрации его в СК и ВПК более чем в три раза ниже. У пациентов с возрастной катарактой содержание ФРН во ВПК значимо коррелирует с его концентрацией в СЖ. При этом уровень ФРН во ВПК не показал существенной корреляции с его содержанием в СК.

4.2. Содержание ФРН в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с ПОУГ

В данном разделе работы была выполнена комплексная клинико-лабораторная диагностика 25 пациентов (25 глаз) с ПОУГ, сочетающейся с возрастной катарактой (основная группа). В качестве группы сравнения были взяты 47 пациентов с возрастной катарактой (47 глаз), составившие материал предыдущего раздела.

Распределение больных по возрасту и полу в основной группе и группе сравнения представлено в таблице 4-2.

Таблица 4-2 – Распределение пациентов в основной группе и группе сравнения по возрасту и полу

Группы	Средний возраст M±σ (Мин – Макс)	Пол	
		мужчины	женщины
Основная	73,5±7,7 (57-89)	9	16
Сравнения	73,2±7,8 (57-86)	19	28

Примечание: различие групп по возрасту и полу недостоверно (P>0,05)

Некорригированная острота зрения у пациентов основной группы составляла в среднем 0,13±0,1, острота зрения с максимальной коррекцией – 0,31±0,19; ВГД – 13,2±2,6 мм рт. ст., длина переднезадней оси глаза – 23,1±0,1 мм.

При биомикроскопии у всех пациентов передний отрезок глаза был спокойным, роговица прозрачной, передняя камера средней глубины, иридофакодонез отсутствовал. Были выявлены помутнения хрусталика

различной степени выраженности, в отдельных случаях отмечалось наличие псевдоэксфолиаций по краю зрачка и на передней капсуле хрусталика.

При проведении гониоскопии у всех пациентов угол передней камеры был открыт, средней ширины, присутствовала умеренная пигментация структур дренажной зоны (0-1 степень).

В случаях, когда помутнение хрусталика позволяло провести офтальмоскопию в достаточном объеме, были выявлены изменения ДЗН: побледнение диска зрительного нерва, увеличение размера экскавации, сдвиг сосудистого пучка к носу, наличие зоны перипапиллярной атрофии.

Дополнительные характеристики пациентов основной группы, включающие клинико-функциональные и анамнестические данные, представлены в таблице 4-3. Учитывая небольшое количество материала, были объединены пациенты с 1 и 2 и с 3 и 4 стадиями заболевания.

Таблица 4-3 – Острота зрения, уровень внутриглазного давления (ВГД), длина переднезадней оси глаза (ПЗО), медикаментозная терапия и хирургическое лечение пациентов основной группы

	Стадия ПОУГ	
	ПОУГ 1-2 (n=9)	ПОУГ 3-4 (n=16)
МКОЗ, М±σ	0,37±0,2	0,27±0,18
ВГД, мм рт ст, М±σ	13,7±2,8	13,0±2,5
ПЗО, мм, М±σ	23,1±0,94	23,1±0,98
Медикаментозная терапия, n (%)		
β-блокаторы	7 (78%)	8 (50%)
Аналоги простагландинов	1 (11%)	3 (19%)
Ингибиторы карбоангидразы	4 (44%)	4 (25%)
Лазерные операции	4 (44%)	10 (63%)
Хирургическое лечение (МНГСЭ)	3 (33%)	12 (75%)

Диагноз глаукомы и стадия глаукомного процесса во всех случаях подтверждались с помощью дополнительных инструментальных методов диагностики: спектральной ОКТ и компьютерной периметрии.

Отдельным пациентам, которым не удавалось провести обследования до операции в полном объеме ввиду выраженного помутнения хрусталика, повторно проводили компьютерную периметрию и ОКТ не ранее, чем через

два дня после ФЭК+ИОЛ. Результаты КП у пациентов с ПОУГ были оценены согласно критериям классификации Mills et al. [122].

Было выполнено сравнение содержания ФРН в различных биологических жидкостях у пациентов с катарактой без и в сочетании с ПОУГ (Таблица 4-4). В таблице 6 представлены также изменения изученных показателей в зависимости от стадии глаукоматозного процесса. Как уже было отмечено, ввиду небольшого объема материала были объединены пациенты с 1 и 2 и с 3 и 4 стадиями заболевания.

Таблица 4-4 - Концентрация фактора роста нервов в изучаемых биологических жидкостях (пг/мл) у больных с катарактой без и в сочетании с ПОУГ, $M \pm \sigma$ (Мин-Макс)

№№	Группа	СЖ	ВПК	СК
1	Основная группа ПОУГ 1-2 (n=9)	79,0±25,3* (44,2-125,4)	29,6±16,2 (6,1-65,4)	25,1±7,0 (11,8-32,0)
2	Основная группа ПОУГ 3-4 (n=16)	87,7±20,9 (52,7-140,1)	29,2±13,1 (11,8-58,4)	23,5±11,7 (11,2-54,6)
3	Группа сравнения (n=47)	85,3±23,3** (36,6 - 135,9)	27,6±12,8 (2,7 - 56,1)	23,2±8,9 (5,9 - 41,6)

Отличия подгрупп от группы сравнения и между собой недостоверны

* n=8 ** n=46

Как видно из таблицы 4-4, между основной группой (больных с ПОУГ) и группой сравнения не было выявлено существенных отличий концентрации ФРН во СЖ, ВПК и СК.

Также отсутствовали значимые изменения содержания ФРН по мере утяжеления глаукомы. Не было установлено и достоверной зависимости содержания ФРН в изученных биологических жидкостях от периметрического индекса VFI (Visual field index) у больных основной группы.

Таким образом, отсутствие существенных различий в концентрации ФРН во всех изучаемых биологических жидкостях у больных основной группы и группы сравнения предположительно может свидетельствовать об отсутствии значимой роли ФРН в патогенезе ПОУГ.

Глава 5. ГЛИАЛЬНЫЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ И ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ

Исходя из анализа литературных данных, крайне мало информации представлено относительно количественного содержания ГНТФ в организме человека: имеются единичные работы о содержании ГНТФ в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости. Полностью отсутствуют данные о количественном содержании ГНТФ в глазу человека и СЖ. Таким образом, несомненный интерес представляет изучение концентрации ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови.

Целью настоящей главы явилось изучение содержания глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой без и в сочетании с возрастной катарактой, а также установление характера его изменений по мере утяжеления глаукомы. Для решения поставленной цели были выполнены клинико-лабораторные исследования глиального нейротрофического фактора в указанных биологических жидкостях.

5.1. Содержание ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с возрастной катарактой

В данном разделе работы проведено клинико-лабораторное обследование 47 пациентов (47 глаз), оперированных по поводу возрастной катаракты. Средний возраст больных составил $74,0 \pm 7,4$ года (от 57 до 88 лет), из них 17 мужчин и 30 женщин. Длина переднезадней оси оперированных глаз составила в среднем $23,37 \pm 0,76$ (от 21,9 до 25,1) мм. Критериями исключения были любая серьезная соматическая и офтальмологическая патология, рефракционные нарушения высоких степеней.

Сравнение содержания ГНТФ в СЖ, ВПК и СК у мужчин и женщин не выявило статистически значимых различий. Также не было установлено зависимости содержания ГНТФ в изучаемых биологических жидкостях от степени плотности катаракты. Это позволило проводить дальнейший анализ без учета различий по данным признакам.

При анализе данных, содержащих единичные наблюдения, в которых концентрация ГНТФ во ВПК была ниже минимально определяемого значения (4 пг/мл), использовали метод подстановки 50%-х значений [84]. В данной работе в 3 случаях (6,4%) содержание ГНТФ во ВПК было ниже минимально определяемого значения (4 пг/мл) в связи с чем была выполнена подстановка: использовали в расчетах значение 2 пг/мл.

Данные о содержании ГНТФ в СЖ, ВПК, СК в изучаемых биологических жидкостях представлены в таблице 5-1.

Таблица 5-1 - Концентрация глиального нейротрофического фактора (ГНТФ) в изучаемых биологических жидкостях (пг/мл), n=47

Исследуемая биологическая жидкость	Концентрация ГНТФ	
	М±σ (Мин-Макс)	медиана (ИКР)
Слезная жидкость	343,6±133,7* (172,8 – 683,0)	314 (244–422)
Влага передней камеры	88,9±46,9 (2,0 – 212,5)	83 (59 - 119)
Сыворотка крови	201,1±44,6 (103,2 – 287,2)	196 (174 - 239)
Соотношение ВПК/СЖ	0,30±0,19* (0,003 – 0,86)	0,26 (0,15 – 0,42)
Соотношение ВПК/СК	0,47±0,28 (0,01 – 1,27)	0,47 (0,29 – 0,57)

* Исключено 1 выпадающее значение

ИКР – интерквартильный размах

СЖ – слезная жидкость

ВПК – влага передней камеры

СК – сыворотка крови

Как видно из таблицы 5-1, содержание ГНТФ во ВПК у пациентов с возрастной катарактой было относительно невысоким: концентрация ГНТФ во ВПК была более, чем в 2 раза ниже, чем в СК и почти в 4 раза ниже, чем в СЖ.

Методом корреляционного анализа установлено, что уровни ГНТФ в исследуемых биологических средах не показали достоверной корреляции между собой. Была выявлена только недостоверная тенденция к корреляции между концентрациями ГНТФ в СЖ и СК: коэффициент корреляции Пирсона $r=0,271$, $P=0,07$.

Наиболее важным результатом данного раздела работы являются впервые установленные количественные показатели содержания ГНТФ в слезе и ВПК человека.

Таким образом, у пациентов с возрастной катарактой уровень ГНТФ во ВПК относительно невысок: концентрация ГНТФ во ВПК более, чем в 2 раза ниже, чем в СК и почти в 4 раза ниже, чем в СЖ.

5.2. Содержание ГНТФ в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у больных с ПОУГ

В данном разделе работы была выполнена комплексная клинико-лабораторная диагностика 30 пациентов (30 глаз) с ПОУГ, сочетающейся с возрастной катарактой (основная группа). В качестве группы сравнения были взяты 47 пациентов с возрастной катарактой (47 глаз), составившие материал предыдущего раздела.

Средний возраст больных ПОУГ составил $73,9 \pm 7,0$ года (от 57 до 89 лет), из них 9 мужчин и 21 женщина, что не отличалось от данных группы сравнения (средний возраст $74,0 \pm 7,4$ года, от 57 до 88 лет, из них 17 мужчин и 30 женщин). Длина ПЗО в обеих группах также не различалась: $23,05 \pm 0,85$ (21,43-25,01) мм у пациентов с ПОУГ против $23,37 \pm 0,76$ (21,9-25,1) мм в группе сравнения.

Распределение больных по возрасту и полу в основной группе и группе сравнения представлено в таблице 5-2.

Таблица 5-2 – Распределение пациентов в основной группе и группе сравнения по возрасту и полу

Группы	Средний возраст M \pm σ (Мин – Макс)	Пол	
		мужчины	женщины
Основная	73,9 \pm 7,0 (57-89)	9	21
Сравнения	74,0 \pm 7,4 (57-88)	17	30

Примечание: различие групп по возрасту и полу недостоверно (P>0,05)

Некорригированная острота зрения пациентов с глаукомой составляла в среднем $0,13 \pm 0,11$, острота зрения с максимальной коррекцией – $0,3 \pm 0,19$; ВГД – $16,6 \pm 2,9$ мм рт. ст.

При проведении биомикроскопии переднего отрезка глаза у всех пациентов не было обнаружено существенных патологических изменений кроме помутнения хрусталика различной степени выраженности; в некоторых случаях отмечалось наличие псевдоэкзофолиаций по краю зрачка и на передней капсуле хрусталика.

При проведении гониоскопии у всех пациентов угол передней камеры был открыт, средней ширины, присутствовала умеренная пигментация структур дренажной зоны (0-1 степень).

В случаях, когда помутнение хрусталика позволяло провести офтальмоскопию в достаточном объеме, были выявлены изменения ДЗН, выраженность которых соответствовала стадии заболевания: побледнение диска зрительного нерва, увеличение размера экскавации, сдвиг сосудистого пучка к носу, наличие зоны перипапиллярной атрофии.

Дополнительные характеристики пациентов основной группы, включающие клинико-функциональные и анамнестические данные, представлены в таблице 5-3.

Таблица 5-3 – Острота зрения, уровень внутриглазного давления (ВГД), длина переднезадней оси глаза (ПЗО), медикаментозная терапия и хирургическое лечение пациентов основной группы

	Стадия ПОУГ	
	ПОУГ 1-2 (n=9)	ПОУГ 3-4 (n=16)
МКОЗ, М±σ	0,36±0,18	0,25±0,19
ВГД, мм рт ст, М±σ	13,3±2,6	13,6±3,1
ПЗО, мм, М±σ	23,01±0,84	23,07±0,88
Медикаментозная терапия, n (%)		
β-блокаторы	10 (77%)	7 (41%)
Аналоги простагландинов	1 (8%)	3 (18%)
Ингибиторы карбоангидразы	6 (46%)	5 (29%)
Лазерные операции	7 (54%)	9 (53%)
Хирургическое лечение (МНГСЭ)	5 (39%)	13 (76%)

Диагноз и стадия глаукомы у всех пациентов основной группы подтверждались с помощью дополнительных инструментальных методов диагностики: спектральной ОКТ и компьютерной периметрии.

Отдельным пациентам, которым не удавалось провести обследования до операции в полном объеме ввиду выраженного помутнения хрусталика, повторно проводили компьютерную периметрию и ОКТ не ранее, чем через

два дня после ФЭК+ИОЛ. Результаты КП у пациентов с ПОУГ были оценены согласно критериям классификации Mills et al. [122]. У 5 больных была установлена 1 стадия, у 8 – вторая, у 5 – третья и у 12 – четвертая стадия ПОУГ.

Было выполнено сравнение содержания ГНТФ в различных биологических жидкостях у пациентов с катарактой без и в сочетании с ПОУГ (Таблица 5-4).

В таблице 5-4 представлены также изменения изученных показателей в зависимости от стадии глаукоматозного процесса. Ввиду небольшого объема материала были объединены пациенты с 1 и 2 и с 3 и 4 стадиями заболевания.

Таблица 5-4 – Концентрация глиального нейротрофического фактора (ГНТФ) в изучаемых биологических жидкостях (пг/мл) у больных с катарактой без и в сочетании с ПОУГ, $M \pm \sigma$ (Мин-Макс)

№№	Группа	СЖ	ВПК	СК
1	Основная группа ПОУГ 1-2 (n=13)	176,1±99,2 (60,5-385,0)	40,0±25,7 (4,4-77,4)	164,9±42,5 (106,4-230,4)
2	Основная группа ПОУГ 3-4 (n=17)	257,7±90,5 (141,4-487,2)	51,1±34,7 (4,4-106,6)	216,6±55,3 (149,6-316,6)
3	Группа сравнения (n=47)	343,6±133,7 (172,8-683,0)	88,9±46,9 (2,0-212,5)	201,1±44,6 (103,2-287,2)
	P*	<0,000	<0,000	0,012
	P1-3	<0,000	0,001	0,042
	P2-3	0,037	0,006	-
	P1-2	-	-	0,010

* Однофакторный дисперсионный анализ

СЖ – слезная жидкость

ВПК – влага передней камеры

СК – сыворотка крови

Примечание:

1. Для СЖ в группе сравнения n=46

Как видно из таблицы 5-4, в основной группе отмечалось существенное снижение концентрации ГНТФ во всех изучаемых биологических жидкостях. Наиболее резкое снижение ГНТФ было

выявлено в СЖ и ВПК; в СК концентрация ГНТФ была снижена только у больных с ПОУГ 1-2 стадии.

5.2.1 Динамика изменений содержания глиального нейротрофического фактора в исследуемых биологических жидкостях по мере утяжеления глаукомы

Наибольший интерес представляет динамика показателей ГНТФ у больных с ПОУГ по мере утяжеления заболевания. Особенно выраженное снижение уровня ГНТФ во всех изученных биологических жидкостях отмечалось в начальных стадиях ПОУГ. При этом наиболее резкое снижение – примерно в 2 раза – демонстрировали средние уровни ГНТФ в СЖ и ВПК, снижение в СК составляло в среднем менее 20%.

В последующих стадиях все показатели несколько повышались по отношению к начальным стадиям ПОУГ (достоверно только для СК), при этом уровень ГНТФ в СЖ и ВПК оставался достоверно сниженным в сравнении с пациентами без глаукомы.

Выявленные особенности изменений содержания ГНТФ в изучаемых биологических жидкостях подтверждались также их отрицательной корреляцией с периметрическим индексом VFI: для СЖ коэффициент корреляции Пирсона $r=-0,4653$ ($P=0,010$), (Рисунок 5-1) для СК $r=-0,399$ ($P=0,029$) (Рисунок 5-2). Для уровня ГНТФ во ВПК была выявлена только недостоверная тенденция к отрицательной корреляции ($r=-0,289$, $P=0,122$). (Рисунок 5-3)

Методом корреляционного анализа у больных ПОУГ выявлена также достоверная корреляция уровней ГНТФ в СК и ВПК: $r=0,468$ ($P=0,009$), корреляций с концентрацией фактора в СЖ обнаружено не было.

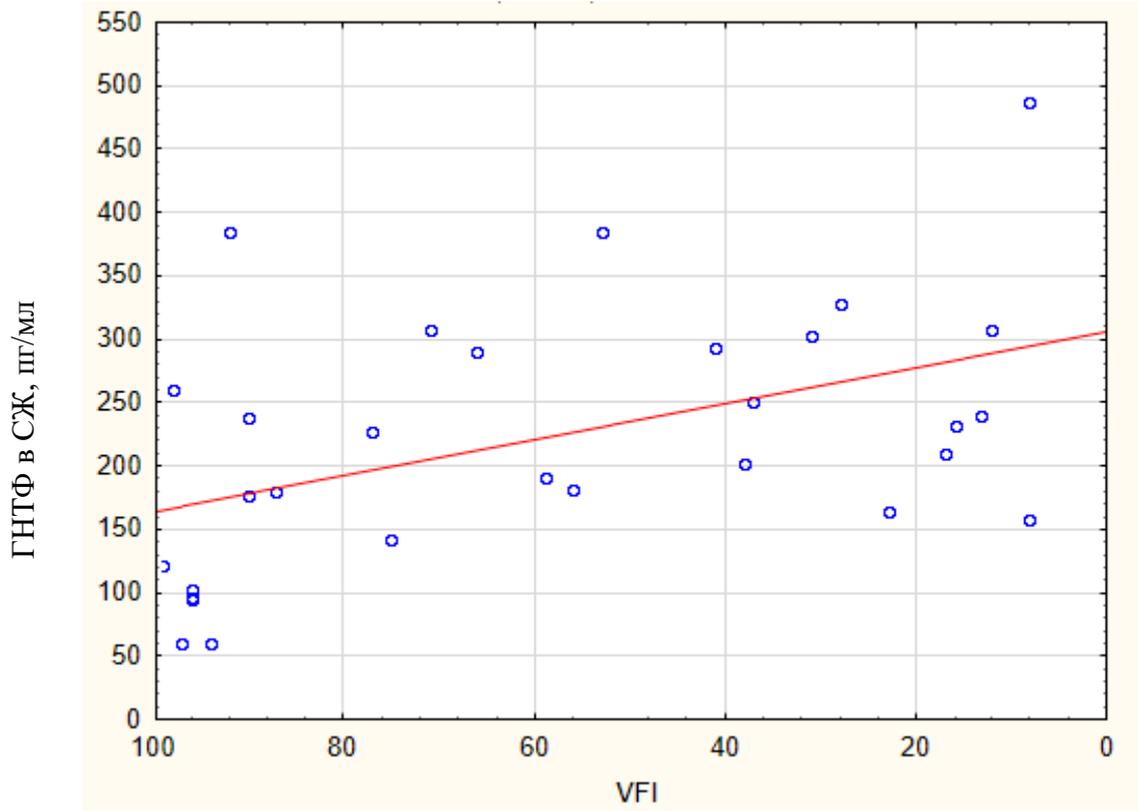


Рисунок 5-1 – Зависимость содержания ГНТФ в СЖ от периметрического индекса VFI у больных основной группы. Здесь и на рисунках 5-2 и 5-3 обратный порядок значений по оси x.

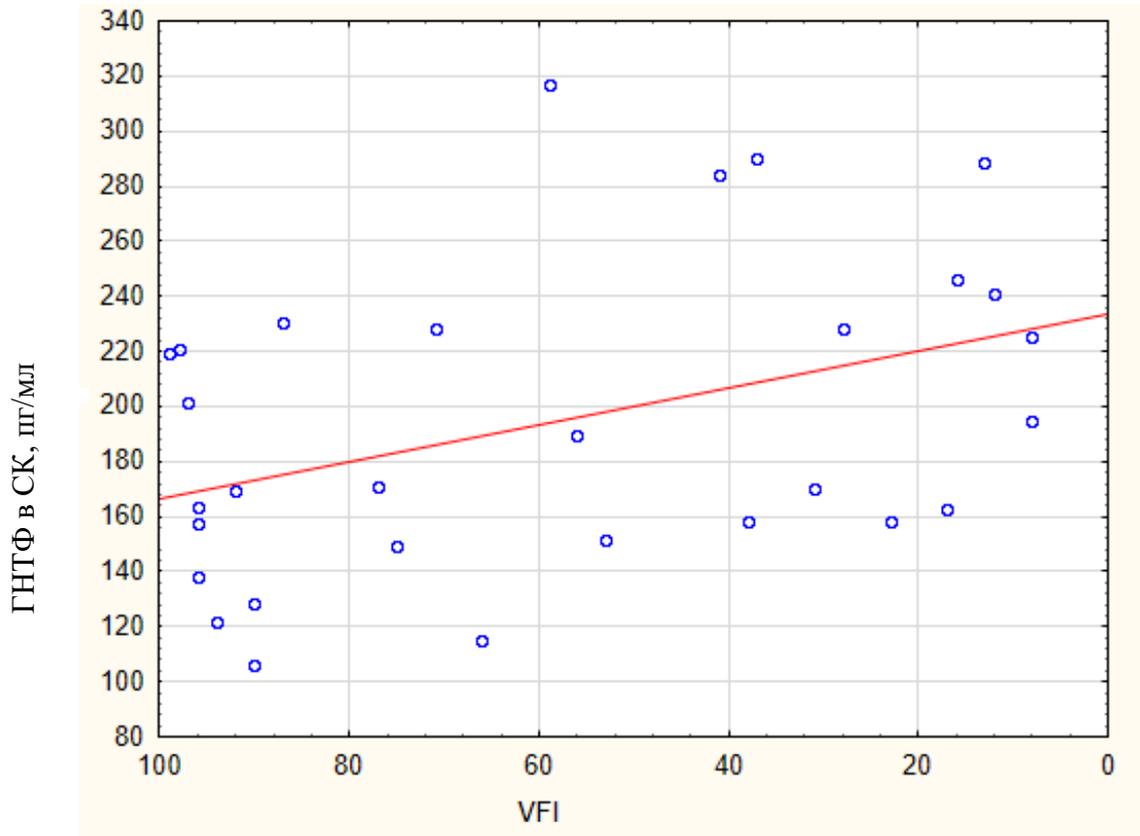


Рисунок 5-2 – Зависимость содержания глиального нейротрофического фактора (ГНТФ) в сыворотке крови (СК) от периметрического индекса VFI у больных основной группы.

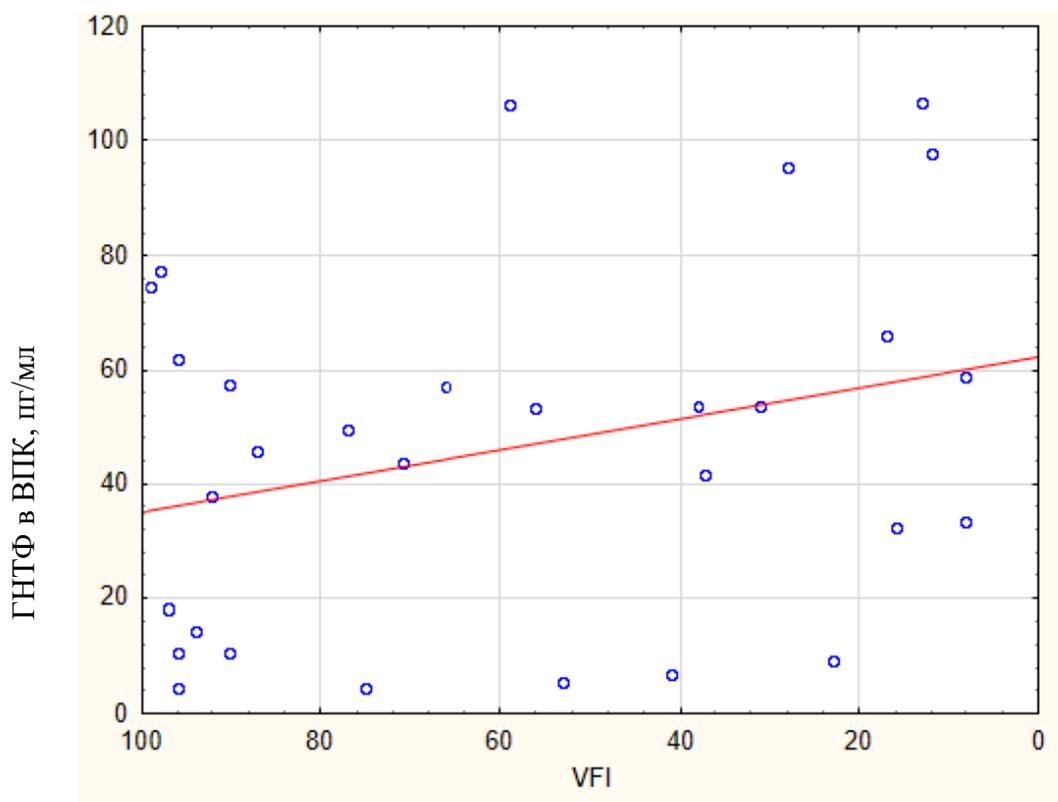


Рисунок 5-3 – Зависимость содержания глиального нейротрофического фактора (ГНТФ) во влаге передней камеры (ВПК) от периметрического индекса VFI у больных основной группы.

Таким образом, наиболее важным результатом данного этапа исследования явилось установленное резкое снижение содержания ГНТФ во ВПК больных с начальной глаукомой, сопровождающееся одновременным выраженным снижением уровня ГНТФ и в СЖ, и в СК.

В последующих стадиях заболевания наблюдалось постепенное относительное повышение показателей ГНТФ во всех изученных биологических жидкостях, не достигающее уровней группы сравнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глаукома продолжает оставаться глобальной и нерешенной медицинской проблемой ввиду ее высокой распространенности во всем мире, а также необратимых последствий для зрения. Данное заболевание характеризуется дегенерацией ганглиозных клеток сетчатки, потерей аксонов зрительного нерва и, как следствие, прогрессирующим дефицитом поля зрения (Kwon et al., 2009 г).

Механизмы, приводящие к повреждению зрительного нерва и гибели ганглиозных клеток сетчатки, все еще недостаточно ясны. Многочисленные клинические и экспериментальные исследования указывают на то, что патогенез заболевания является мультифакториальным: играют роль такие факторы как генетика, возраст, а также состояние регуляторных механизмов на всех уровнях. Среди непосредственных причин, приводящих к патологическим изменениям и гибели ганглиозных клеток сетчатки, выделяют хроническую ишемию, повышенное внутриглазное давление, воздействие активных форм кислорода, эксайтотоксичность, иммунологические нарушения, а также дефицит нейротрофических факторов.

Таким образом, терапевтический подход, направленный только на снижение уровня офтальмотонуса, не устраняет факторы, лежащие в основе повреждения ганглиозных клеток сетчатки, и недостаточен для остановки или замедления прогрессирования заболевания.

В связи с вышеизложенным, чрезвычайно важное значение приобретает понимание патогенеза глаукомы и поиски возможной нейропротекторной терапии.

В последние годы практически во всех разделах медицины проводятся исследования в области изучения нейротрофических факторов при целом ряде патологических состояний. Было показано, что указанные факторы

участвуют в регуляции гомеостатических процессов как на системном, так и на местном уровнях.

Принимая во внимание результаты исследований, проведенных в последние годы, дефицит нейротрофических факторов все чаще считается одной из главных причин развития многих нейродегенеративных и психических заболеваний, таких как болезни Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона, шизофрении и депрессии.

В офтальмологии во многих экспериментальных и клинических исследованиях была отмечена несомненная нейропротекторная роль нейротрофических факторов в отношении ряда серьезных патологических состояний. Исследования роли ФРН при патологии переднего отрезка глазного яблока обеспечили создание оригинального метода лечения нейротрофического кератита рекомбинантным ФРН (Cenergermin), выпускаемым в виде глазных капель Oxervate в США и Европе.

На моделях глаукомы было продемонстрировано, что местно применяемый ФРН замедляет апоптоз ганглиозных клеток сетчатки и стимулирует восстановление поврежденных ГКС [48]. В настоящее время на базе Стэнфордского университета ведется 3-я фаза клинических исследований по применению ФРН в каплях у пациентов с глаукомой, что указывает на большой фармакологический потенциал данного нейротрофина.

Среди других нейротрофических факторов, ГНТФ также привлек внимание ученых как потенциальный терапевтический агент в отношении поврежденных клеток сетчатки. В работе Flaschbarth с соавт. [69] было установлено, что введение стволовых клеток, секретирующих ГНТФ, увеличивает выживаемость ганглиозных клеток сетчатки после аксотомии. Все больше исследований направлено на изучение вопросов доставки ГНТФ к структурам заднего отрезка глаза: в нескольких работах рассматривалась

возможность его применения в форме биodeградируемых микросфер, вводимых путем интравитреальной инъекции [40, 72].

Таким образом, стратегии снижения внутриглазного давления в сочетании с нейропротективной терапией путем экзогенного введения нейротрофических факторов во многом могли бы улучшить перспективы лечения этого сложного заболевания и помочь сохранить зрение у пациентов с глаукомой.

Вместе с тем, практически отсутствуют данные о количественном содержании ГНТФ и ФРН в глазу и в слезной жидкости человека, что послужило основанием для исследования вышеуказанных нейротрофических факторов во влаге передней камеры и слезной жидкости.

Основным способом изучения содержания нейротрофических факторов внутри глаза у больных глаукомой является исследование влаги передней камеры, полученной в ходе операции экстракции возрастной катаракты.

В данной работе крайне важным являлся тщательный отбор пациентов и уточнение диагноза глаукомы на дооперационном этапе для исключения проведения в дальнейшем неоправданных исследований – забора слезной жидкости, влаги передней камеры и сыворотки крови, лабораторной диагностики и т. д.

Основными методами уточнения диагноза и определения стадии глаукомы являются компьютерная (статическая) периметрия и ОКТ. Как известно, обследование методом ОКТ является особенно важным на ранних стадиях глаукомы, когда дефекты поля зрения могут быть не столь выраженными или отсутствовать.

Учитывая, что катаракта оказывает существенное влияние на качество измерения СНВС и других параметров, требует уточнения степень помутнения хрусталика, допускающая получение достаточно качественных сканов ОКТ.

Таким образом, актуальным вопросом является выработка оптимальных критериев, необходимых для получения качественных измерений методом ОКТ.

В связи с изложенным, **целью** настоящей работы явилось изучение содержания фактора роста нервов и глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры, слезной жидкости и сыворотке крови у больных с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной катарактой. Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить влияние возрастной катаракты на качество измерений оптической когерентной томографии, используемых в диагностике первичной открытоугольной глаукомы.
2. Изучить содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
3. Изучить содержание фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой и характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.
4. Изучить содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без глаукомы.
5. Изучить содержание глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сочетании с возрастной катарактой и характер его изменений по мере утяжеления глаукомы.

Для выполнения поставленных задач было обследовано 166 человек (166 глаз), из них 123 пациента с возрастной катарактой, 32 пациента с ПОУГ различных стадий в сочетании с возрастной катарактой, а также 11

здоровых добровольцев, на слезной жидкости которых проводилась отработка методики определения нейротрофических факторов.

Отбор пациентов осуществляли сплошным методом. Исключали пациентов с терминальной глаукомой, тяжелой сопутствующей офтальмопатологией (дегенеративные заболевания сетчатки, увеиты, атрофия зрительного нерва и др.), рефракционными нарушениями высоких степеней, офтальмологическими вмешательствами в последние 3 месяца перед операцией, а также соматическими заболеваниями (сахарный диабет, бронхиальная астма, аутоиммунные, онкологические заболевания и другая серьезная соматическая патология). Допускались отдельные сопутствующие заболевания в начальных стадиях, такие как гипертоническая болезнь 1-2 стадии, мерцательная аритмия, стенокардия напряжения I-II функционального класса и т.п. У всех обследуемых лиц сопутствующая патология находилась в стадии компенсации.

Для решения задачи оценки влияния возрастной катаракты на качество измерений ОКТ, используемых для диагностики глаукомы, было обследовано 83 пациента (83 глаза) с возрастной катарактой до и после операции ФЭК+ИОЛ. Для определения критериев надежности измерений ОКТ у пациентов с возрастной катарактой было выполнено сравнение нескольких показателей плотности хрусталика, а именно силы сигнала ОКТ, определяемой самим прибором (Cirrus HD-OCT), данных денситометрии прибора Pentacam-HR и биомикроскопии.

Проведенный ROC-анализ выявил существенные преимущества показателя силы сигнала, определяемого самим прибором, по сравнению с другими изученными критериями. Были установлены оптимальные пороговые значения силы сигнала прибора, позволяющее получать надежные данные: 6 для пСНВС и 5 для толщины сетчатки в фовеальной зоне.

Следует особо отметить, что по данным ROC-анализа, биомикроскопия хрусталика не позволяет с достаточной точностью прогнозировать возможность надежного проведения измерений методом ОКТ (AUC для всех параметров был близок к 0,5) и на нее нельзя ориентироваться при оценке результатов ОКТ. Определенным исключением служит только выраженная заднекапсулярная катаракта. Этот тип помутнения характеризуется особой плотностью и расположением в оптическом центре, что ухудшает светопропускание в большей степени, чем при других типах помутнения хрусталика. В настоящей работе было обнаружено, что заднекапсулярные катаракты значительно снижают надежность измерений ОКТ, особенно в фовеальной области.

Таким образом, у пациентов с возрастной катарактой критериями надежности измерений структур глазного дна методом ОКТ могут служить только собственные данные прибора (сила ОКТ-сигнала). Показатели денситометрии хрусталика на приборе Pentacam HR и биомикроскопическая оценка степени помутнения хрусталика мало информативны в качестве критериев надежности измерений ОКТ. Исключением является обнаружение при биомикроскопии выраженной заднекапсулярной катаракты, что будет указывать на ненадежность измерений ОКТ при обследовании данным методом.

Основной материал исследования составили пациенты, у которых катаракта сочеталась с ПОУГ различных стадий (32 человека). Диагноз ПОУГ устанавливали по результатам комплексного обследования, включавшего наряду с традиционными методами дополнительные инструментальные методы диагностики – ОКТ и компьютерную периметрию. Стадию ПОУГ определяли по данным исследования центрального поля зрения по программе «24-2 SITA Standard» согласно классификации Mills et al. [122], в которой продвинутая (далеко зашедшая) стадия разделяется на две с выделением стадии тяжелой глаукомы.

В качестве контроля были взяты пациенты с возрастной катарактой (62 человека). Ранее при сравнении больных с катарактой и здоровых испытуемых было установлено, что возрастная катаракта не оказывает существенного влияния на концентрации в СЖ и СК двух других нейротрофинов: цилиарного нейротрофического фактора (ЦНТФ) [10] и нейротрофического фактора головного мозга (НФГМ) [11], что предположительно связано с отсутствием выраженных воспалительных и иммунных изменений при данной патологии. Учитывая эти результаты, для ФРН и ГНТФ сравнение его содержания в СЖ и СК у больных с катарактой и здоровых лиц не проводилось.

Следующим этапом данного исследования было изучение содержания ФРН в СЖ, ВПК и СК у пациентов с возрастной катарактой.

Для установления нормативов содержания ФРН в указанных средах было проведено клиничко-лабораторное обследование 47 пациентов (47 глаз), оперированных по поводу возрастной катаракты. Средний возраст больных составил $73,2 \pm 7,8$ лет (от 57 до 86 лет), из них 19 мужчин и 28 женщин. Длина переднезадней оси оперированных глаз составила в среднем $23,49 \pm 0,80$ (от 21,94 до 25,41) мм.

Плотность катаракты оценивали по упрощенной системе ВОЗ [162]. Всем пациентам была выполнена операция ФЭК+ИОЛ по стандартной методике; интра- и послеоперационные осложнения отсутствовали.

Забор стимулированной СЖ производили в объеме 100-200 мкл из нижнего конъюнктивального свода пипеточным дозатором в день перед операцией, ВПК и СК – во время операции ФЭК+ИОЛ. Определение концентрации ФРН в изучаемых биологических жидкостях выполняли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Quantikine Elisa (Cloud-Clone corp., США) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США).

Сравнение содержания ФРН в СЖ, ВПК и СК у мужчин и женщин не выявило статистически значимых различий. Также не было установлено зависимости содержания ФРН в изучаемых биологических жидкостях от степени плотности катаракты. Это позволило проводить дальнейший анализ без учета различий по указанным признакам.

Согласно результатам данного этапа исследования, содержание ФРН было наиболее высоким в слезной жидкости - $85,3 \pm 23,3$ пг/мл; концентрации ФРН в СК и ВПК были более чем в три раза ниже и составляли $27,6 \pm 12,8$ и $23,2 \pm 8,9$ пг/мл соответственно. При этом уровень ФРН во ВПК достоверно коррелировал только с его содержанием в СЖ: коэффициент корреляции Пирсона $r=0,526$, $P<0,000$. Корреляция концентраций ФРН в СК и ВПК была в 2 раза слабее ($r=0,251$) и не значима.

Большой интерес представляют полученные в данной работе количественные данные о содержании ФРН во ВПК пациентов с возрастной катарактой. Впервые Chowdhury U.R. и соавторами методом протеомного анализа установили только факт наличия beta-ФРН и ФРН R во влаге передней камеры пациентов, оперируемых по поводу неосложненной катаракты [44]. В работе [39] были выявлены весьма низкие, практически не определяемые концентрации ФРН, что, по-видимому, было обусловлено малой чувствительностью использованной тест-системы. В недавнем исследовании [42] было установлено содержание ФРН во ВПК примерно в 4 раза более низкое, чем в настоящей работе ($5,97 \pm 3,16$ пг/мл). Такие результаты были получены при проведении мультиплексного анализа, обеспечивающего одновременное измерение концентраций большого числа цитокинов.

При сравнении полученных результатов с литературными данными, был выявлен очень большой разброс показателей содержания ФРН в СК: от $5,5 \pm 1,2$ пг/мл [131] до 18500 ± 6100 пг/мл [140], что предположительно может быть связано как с использованием различных методик исследования и их

модификаций, так и с выбором тест-систем различных производителей. Кроме того, следует учитывать, что на уровень нейротрофинов в сыворотке крови может влиять целый ряд системных факторов. Как на экспериментальных моделях, так и у человека было показано, что на уровень ФРН в сыворотке крови влияют, в частности, такие факторы как стресс, депрессия, тревожность, наличие дегенеративных заболеваний [121, 142].

Далее было изучено содержание ФРН в СЖ, ВПК и СК у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Для этого была выполнена комплексная клинико-лабораторная диагностика 25 пациентов (25 глаз) с ПОУГ, сочетающейся с возрастной катарактой (основная группа). В качестве группы сравнения были взяты обследованные ранее 47 пациентов с возрастной катарактой (47 глаз). Набор пациентов основной, так же, как и группы сравнения, осуществляли сплошным методом, у каждого испытуемого в анализ включали только один глаз.

Наряду с традиционными методами, пациентам была проведена дополнительная инструментальная диагностика, включавшая компьютерную периметрию на приборе Humphrey Field Analyzer II (Carl Zeiss Meditec Inc.) и спектральную оптическую когерентную томографию на аппарате Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec Inc.). При выраженном помутнении хрусталика углубленное исследование проводили после операции. Всем пациентам была выполнена операция ФЭК+ИОЛ по стандартной методике, не сопровождавшаяся интра- и послеоперационными осложнениями.

Забор СЖ, ВПК и СК, а также определение концентрации ФРН в изучаемых биологических жидкостях производили по описанной выше методике.

В ходе данного этапа исследования было выполнено сравнение содержания ФРН в различных биологических жидкостях у пациентов с катарактой без и в сочетании с ПОУГ, а также был проведен анализ изменения изученных показателей в зависимости от стадии глаукоматозного процесса. Ввиду небольшого объема материала были объединены пациенты с 1 и 2 и с 3 и 4 стадиями заболевания.

В отношении содержания ФРН у пациентов с ПОУГ, анализ полученных результатов не выявил статистически достоверных различий уровня ФРН в изучаемых средах между группами пациентов с 1-2 и с 3-4 стадиями глаукомы. Концентрация ФРН в СЖ, ВПК и СК у пациентов с 1-2 стадиями глаукомы составила $79,0 \pm 25,3$, $29,6 \pm 16,2$, $25,1 \pm 7,0$ пг/мл соответственно. У пациентов с 3-4 стадиями глаукомы концентрация ФРН в СЖ, ВПК и СК практически не отличалась, составляя $87,7 \pm 20,9$, $29,2 \pm 13,1$, $23,5 \pm 11,7$ пг/мл соответственно. Данные больных с глаукомой достоверно не отличались и от приведенных выше показателей больных с возрастной катарактой группы сравнения ($p > 0,05$).

Отсутствие значимых изменений содержания ФРН по мере утяжеления глаукомного процесса подтверждалось и тем, что не было установлено достоверной зависимости содержания ФРН в изученных биологических жидкостях от периметрического индекса VFI у больных основной группы. Предположительно, приведенные результаты могут свидетельствовать об отсутствии значимой роли ФРН в патогенезе ПОУГ.

Полученные результаты отличаются от результатов зарубежных авторов (Oddone et al., 2017), которые продемонстрировали, что уровень ФРН в сыворотке крови у пациентов с глаукомой был значительно ниже, чем у здоровых людей ($4,1 \pm 1$ пг/мл и $5,5 \pm 1,2$ пг/мл, $p = 0,01$). При этом углубленный анализ показал, что уровень ФРН в сыворотке был наиболее снижен в начальных стадиях глаукомы, а концентрация ФРН в СК у пациентов с более поздними стадиями была близка к уровню ФРН,

обнаруженному у здоровых людей. Однако, следует подчеркнуть, что результаты по сыворотке крови, полученные в настоящей работе, совпали с данными изменений ФРН в СЖ и ВПК. Для окончательного суждения необходим дальнейший набор материала.

Тем не менее, отсутствие значимых различий уровня ФРН в изучаемых средах между группами пациентов с катарактой и глаукомой не исключает возможности его использования в целях нейропротекции у пациентов данной категории, учитывая его несомненную защитную роль в отношении поврежденных ганглиозных клеток сетчатки.

Дальнейшим этапом работы стало изучение содержания другого нейротрофического фактора – ГНТФ – в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с возрастной катарактой без и в сочетании с ПОУГ. В первую очередь было проведено клинко-лабораторное обследование 47 пациентов (47 глаз), оперированных по поводу возрастной катаракты.

Забор стимулированной СЖ производили в объеме 100-200 мкл по описанной ранее методике в день перед операцией, ВПК и СК – во время операции ФЭК+ИОЛ. Определение концентрации ГНТФ в изучаемых биологических жидкостях выполняли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Quantikine Elisa (RayBiotech, США) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США). С целью увеличения содержания свободной формы ГНТФ в вышеуказанном биологическом материале и повышения его доступности для определения методом твердофазного ИФА проводили предварительную кислотную обработку образцов по методике, предложенной Okragly A.J., Haak-Frendscho M. в 1997 году [133].

По результатам проведенного анализа, содержание ГНТФ во ВПК у пациентов с возрастной катарактой было относительно невысоким:

концентрация ГНТФ во ВПК составила $88,9 \pm 46,9$ пг/мл и была более, чем в 2 раза ниже, чем в СК и почти в 4 раза ниже, чем в СЖ.

Методом корреляционного анализа было установлено, что уровни ГНТФ в исследуемых биологических средах не показали достоверной корреляции между собой. Была выявлена только недостоверная тенденция к корреляции между концентрациями ГНТФ в СЖ и СК: коэффициент корреляции Пирсона $r=0,271$, $P=0,07$.

Следует отметить, что ранее проведенные исследования, посвященные изучению содержания ГНТФ на системном уровне, в частности, в сыворотке крови, выявили весьма большой разброс показателей: от $11,7 \pm 3,9$ [172] до $689,6 \pm 295,8$ [137]. Значения, относительно сопоставимые с полученными в настоящем исследовании, представлены в двух работах: $126,8 \pm 50,7$ [38] и $112,6 \pm 19,7$ [165].

Важным результатом данного раздела настоящей работы являются впервые установленные количественные показатели содержания ГНТФ в слезе и ВПК человека. Полученные показатели могут быть использованы в качестве нормативных данных при изучении различных форм патологии зрительно-нервного аппарата. Ранее проводились лишь качественные исследования наличия или отсутствия ГНТФ и его рецепторов. Так, было показано наличие ГНТФ в слезе [148]. Во ВПК ГНТФ не был обнаружен, однако было выявлено наличие его рецепторов: GFR alpha-1, 2, 3, 4 [44].

Учитывая большие различия концентраций по данным разных исследователей, для любого нейротрофического фактора важное практическое значение имеет наличие существенной корреляции концентраций во ВПК и СЖ, что позволяет использовать измерение его уровня в СЖ для косвенной оценки содержания во ВПК [10]. Ранее были выявлены такие корреляции для других нейротрофических факторов – ЦНТФ, нейротрофического фактора головного мозга (НФГМ) [12]; была

установлена достоверная корреляция между уровнями ФРН во ВПК и СЖ при отсутствии других значимых корреляций.

Однако в настоящей работе не было выявлено корреляции между содержанием ГНТФ в изученных биологических жидкостях. Вероятно, отсутствие значимых корреляций между уровнями ГНТФ в СЖ, ВПК и СК может быть связано с его более высоким молекулярным весом по сравнению с другими нейротрофинами (35 кДа по сравнению с 27,2 кДа для НФГМ, 22,7 кДа для ЦНТФ и 26 кДа для ФРН), что затрудняет его прохождение через барьерные структуры глаза.

Одним из наиболее значимых разделов данного исследования было изучение содержания ГНТФ в СЖ, ВПК и СК у больных с глаукомой.

В ходе выполнения поставленной задачи было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 30 пациентов (30 глаз) с ПОУГ, сочетающейся с возрастной катарактой (основная группа). В качестве группы сравнения были взяты обследованные на предыдущем этапе 47 пациентов с возрастной катарактой (47 глаз). Всем пациентам была выполнена неосложненная операция ФЭК+ИОЛ. Набор пациентов основной, так же, как и ранее группы сравнения, осуществляли сплошным методом, у каждого испытуемого в анализ включали только один глаз. Критерии включения и исключения не отличались от установленных ранее.

Диагноз ПОУГ был подтвержден с помощью дополнительных инструментальных методов исследования, включавших ОКТ и компьютерную периметрию. Стадию ПОУГ определяли по данным исследования центрального поля зрения по программе «24-2 SITA Standard» согласно классификации Mills et al. При выраженном помутнении хрусталика углубленное исследование проводили после операции.

Методика забора СЖ, ВПК и СК и определения в них концентрации ГНТФ не отличалась от описанной выше. Ввиду небольшого объема

материала были объединены пациенты с 1 и 2 и с 3 и 4 стадиями заболевания.

Было установлено, что у пациентов с ПОУГ в начальных стадиях (стадии 1-2 по классификации Mills et al., 2006) отмечается наиболее выраженное снижение концентрации ГНТФ во всех изученных биологических жидкостях, особенно в СЖ и ВПК. Концентрация ГНТФ у пациентов с 1-2 стадией глаукомы была достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группе сравнения во всех биологических жидкостях, составляя во ВПК $40,0 \pm 25,7$ пг/мл по сравнению с $88,9 \pm 46,9$ пг/мл, в СЖ - $176,1 \pm 99,2$ пг/мл по сравнению с $343,6 \pm 133,7$ пг/мл, в СК - $164,9 \pm 42,5$ пг/мл по сравнению с $201,1 \pm 44,6$ пг/мл.

В более продвинутых 3-4 стадиях заболевания уровни ГНТФ в СЖ и ВПК несколько (недостоверно) повышаются, не достигая нормальных значений: концентрации ГНТФ в указанных средах у пациентов с 3-4 стадией глаукомы составили $257,7 \pm 90,5$ и $51,1 \pm 34,7$ пг/мл соответственно. Достоверно увеличивается и нормализуется только содержание ГНТФ в СК: $216,6 \pm 55,3$ пг/мл.

По данным литературы, сходную динамику демонстрировал другой нейротрофин, НФГМ, содержание которого в изученных биологических жидкостях максимально снижалось в начальной стадии ПОУГ, а затем повышалось, не достигая нормальных значений [11].

Сложно судить, является ли выявленное снижение уровня ГНТФ и НФГМ в начальных стадиях ПОУГ одной из причин или следствием возникновения заболевания. В любом случае можно утверждать, что нейротрофические факторы, и, в частности ГНТФ, являются важными звеньями патогенеза ПОУГ и требуют дальнейшего углубленного изучения.

Повышение уровней ГНТФ и НФГМ в более продвинутых стадиях ПОУГ, вероятно, может быть обусловлено наличием компенсаторных механизмов восстановления, которые начинают действовать только на

поздних стадиях нейродегенерации. Существование подобных механизмов было предположено в исследованиях, оценивающих уровни нейротрофинов в сыворотке крови пациентов с болезнью Альцгеймера [102, 68, 25, 60].

Более того, в недавнем исследовании Sharif et al. [155] была установлена достоверная прямая корреляция между уровнем ГНТФ в сыворотке крови и тяжестью дегенеративного процесса при болезни Альцгеймера, а также когнитивными нарушениями.

Изменения уровней ГНТФ в изученных биологических жидкостях по мере развития глаукомы, установленные в настоящем исследовании, вероятно, являются отражением прогрессирующего нейродегенеративного процесса, который сопровождает течение ПОУГ.

Данная работа имеет ряд ограничений. Забор СЖ и ВПК осуществлялся в разные дни, что могло сказаться на уровнях ФРН и ГНТФ. На результаты исследования ФРН и ГНТФ в слезной жидкости могла также повлиять стимуляция выделения слезы при ее заборе; однако только таким методом можно было получить минимально необходимое для исследования количество СЖ.

Нельзя не отметить, что данное исследование ограничивает малая выборка пациентов с глаукомой ввиду жестких критериев отбора: необходимо было полностью исключить пациентов с сопутствующей соматической и офтальмологической патологией, учитывая, что на уровень нейротрофинов в различных биологических жидкостях может влиять как общий соматический и иммунный статус, так и ранее не установленные заболевания, находящиеся в хронической или латентной стадии.

Более того, нельзя исключить влияние стресса, которым так или иначе сопровождается проведение хирургического вмешательства, предоперационной медикаментозной подготовки и анестезиологического пособия, а также индивидуальных особенностей пациентов. Эти ограничения были вынужденными и, вероятно, могли оказать определенное

влияние на концентрации нейротрофических факторов в изучаемых биологических жидкостях.

Таким образом, в рамках данной работы впервые представлены количественные данные о содержании ФРН и ГНТФ в структурах глаза у пациентов с глаукомой. Впервые было установлено, что начальные стадии глаукомного процесса сопровождается выраженным снижением концентрации ГНТФ как внутри глаза, так и во всем организме, что несомненно указывает на одну из ключевых ролей данного нейротрофина в патогенезе глаукомы.

Несмотря на то, что в данной работе было обнаружено отсутствие значимых отличий уровня ФРН в изучаемых средах между группами пациентов с катарактой без и в сочетании с глаукомой, нельзя не учитывать его выраженный нейропротекторный эффект в отношении ганглиозных клеток сетчатки, доказанный в многочисленных экспериментальных работах. Отсутствие достоверных изменений ФРН у больных с разными стадиями глаукомы не исключает возможности его применения с целью нейропротекции. Безусловно, для верификации полученных результатов требуется проведение дальнейших углубленных исследований.

Таким образом, изучение нейротрофических факторов у пациентов с глаукомой представляет большой интерес и в дальнейшем может оказаться полезным в разработке новых терапевтических стратегий лечения данного заболевания, в частности, путем использования ГНТФ и ФРН наряду с другими нейротрофическими факторами в целях нейропротекции.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с возрастной катарактой критериями надежности измерений структур глазного дна методом оптической когерентной томографии, используемых для диагностики глаукомы, могут служить только собственные данные прибора (сила ОКТ-сигнала). Наименьшее значение силы сигнала, позволяющее получать надежные данные на приборе Cirrus HD-OCT, составляет 6 для пСНВС и 5 для толщины сетчатки в фовеальной зоне.
2. У пациентов с возрастной катарактой наиболее высокий уровень фактора роста нервов определяется в слезной жидкости, концентрации его в сыворотке крови и влаге передней камеры более чем в три раза ниже; у пациентов с возрастной катарактой содержание фактора роста нервов во влаге передней камеры значимо коррелирует с его концентрацией в слезной жидкости ($r=0,526$, $P<0,000$).
3. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой отсутствуют достоверные отличия содержания фактора роста нервов в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови в зависимости от стадии заболевания и по сравнению с пациентами без глаукомы.
4. У пациентов с возрастной катарактой концентрация глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры более чем в 2 раза ниже, чем в сыворотке крови, и почти в 4 раза ниже, чем в слезной жидкости. Концентрации глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости, влаге передней камеры и сыворотке крови значимо не коррелируют между собой.
5. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой выявлено существенное снижение содержания глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры, слезной жидкости и сыворотке крови в 1-2 стадиях заболевания и несколько менее выраженное во влаге передней камеры и слезной жидкости в 3-4 стадиях. По мере

развития заболевания наблюдается постепенное повышение концентрации глиального нейротрофического фактора во влаге передней камеры и слезной жидкости, тем не менее, уровень глиального нейротрофического фактора в данных средах остается достоверно сниженным относительно пациентов без глаукомы. Установлена обратная корреляция содержания глиального нейротрофического фактора в слезной жидкости ($r=-0,465$; $P=0,01$) и сыворотке крови ($r=-0,399$; $P=0,029$) с периметрическим индексом VFI, а также прямая корреляция уровней глиального нейротрофического фактора в сыворотке крови и влаге передней камеры ($r=0,468$; $P=0,009$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с возрастной катарактой критериями надежности измерений структур глазного дна методом ОКТ, используемых для диагностики глаукомы, могут служить только собственные данные прибора (сила ОКТ-сигнала).
2. Наименьшее значение силы сигнала, позволяющее получать надежные данные на приборе Cirrus HD-OCT, составляет 6 для пСНВС и 5 для толщины сетчатки в фовеальной зоне.
3. На приборах других производителей критериями надежности измерений являются соответствующие показатели качества скана (для него используют разные названия) на приборах Optovue не менее 39 из 100, на приборах Heidelberg Engineering – не менее 15 из 40, на приборах Topcon – не менее 45 из 100.
4. Установленные показатели и соотношения концентраций ФРН и ГНТФ в исследуемых биологических жидкостях могут быть использованы в качестве нормативов для дальнейших исследований, проводимых по описанной методике.
5. Полученные результаты могут быть использованы в разработке новых методов лечения ПОУГ путем использования ГНТФ и ФРН в целях нейропротекции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГНТФ (GDNF – англ.) – глиальный нейротрофический фактор

ВГД – внутриглазное давление

ВПК – влага передней камеры

ДЗН – диск зрительного нерва

ОКТ – спектральная оптическая когерентная томография

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

СЖ – слезная жидкость

СК – сыворотка крови

СНВС – слой нервных волокон сетчатки

ФРН (NGF – англ.) – фактор роста нервов

ФЭК+ИОЛ – фактоэмульсификация катаракты с имплантацией
интраокулярной линзы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов, С. Э. Обоснование нейропротекции при глаукоме / С. Э. Аветисов, В.П. Еричев, Т.В. Яременко. – Текст: непосредственный // Национальный журнал глаукома. – 2019. – № 18(1). – С. 85-94.
2. Борзенко, С. А. Нейротрофические факторы и клеточная терапия в лечении глаукомной оптической нейропатии / С. А. Борзенко, М. Х. Хубецова, Н. А. Гаврилова, И. Н. Сабурин, Х. Д. Тонаева. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2016. – № 1. – С. 78-84.
3. Гаврилова, Н. А. Влияние модифицированного глиального нейротрофического фактора (GDNF) на регенерацию эпителиально-стромального дефекта роговицы в эксперименте / Н. А. Гаврилова, А. В. Ревин, С. А. Борзенко, О. Ю. Комова, М. Б. Агаммедов, Х. Д. Тонаева, Д. С. Островский, Г. В. Павлова. – Текст: непосредственный // Гены & Клетки. – 2016. – №3. – С. 54-62.
4. Гомазков, О. А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О. А. Гомазков. – Москва: ИКАР, 2011. – 92 с. – Текст: непосредственный.
5. Егоров, Е. А. Нейропротекция при глаукоме: современные возможности и перспективы / Е. А. Егоров, А. Ю. Брежнев, А. Е. Егоров. – Текст: непосредственный // РМЖ «Клиническая офтальмология». – 2014. – № 2. – С. 108-112.
6. Курышева, Н. И. Исследование нейротрофического фактора BDNF у больных с первичной глаукомой / Н. И. Курышева, Н. А. Гаврилова, А. Ю. Аникина. – Текст: непосредственный // Глаукома. – 2006. – № 4. – С. 9-15.
7. Попова, Н. К. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотонинергическая система мозга (обзор) / Н. К. Попова, Т. В. Ильчибаева, В. С. Науменко. – Текст: непосредственный // Биохимия. – 2017. – № 82 (43). – С. 449-459.

8. Шишкина, Т. В. Роль глиального нейротрофического фактора в функционировании нервной системы (обзор) / Т. В. Шишкина, М. В. Ведунова, Т. А. Мищенко, И. В. Мухина. – Текст: непосредственный // Современные технологии в медицине. – 2015. – № 4. – С. 211-220.

9. Шпак, А. А. Оптическая когерентная томография: проблемы и решения / А. А. Шпак – Москва: Офтальмология, 2019. – 148 с. – Текст: непосредственный.

10. Шпак, А. А. Нейротрофические факторы у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной катарактой. Сообщение 1. Цилиарный нейротрофический фактор / А. А. Шпак, А. Б. Гехт, Т. А. Дружкова, К. И. Козлова, Н. В. Гуляева. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2018. – № 3. – С. 41-45.

11. Шпак, А. А. Нейротрофические факторы у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной катарактой. Сообщение 2. Нейротрофический фактор головного мозга / А. А. Шпак, А. Б. Гехт, Т. А. Дружкова, К. И. Козлова, Н. В. Гуляева – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2018. – № 4. – С. 46-51.

12. Шпак, А. А. Соотношения нейротрофических факторов в слезной жидкости и влаге передней камеры у больных с возрастной катарактой / А.Б. Гехт, Т.А. Дружкова, К.И., Козлова, Н.В. Гуляева. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2017. – № 1. – С. 16-20.

13. Шпак, А. А. Оценка стереометрических параметров диска зрительного нерва и слоя нервных волокон сетчатки на приборе НРТ III. Сообщение 3: Сравнение ошибки методов Гейдельбергской ретинотомографии и спектральной оптической когерентной томографии / А. А. Шпак, М. К. Малаханова, С. Н. Огородникова. – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2011. – № 127(2). – С.46-49.

14. Шпак, А. А. Ошибки классической и спектральной оптической когерентной томографии при измерении слоя нервных волокон сетчатки у

здоровых лиц / А.А. Шпак, С.Н. Огородникова – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2010. – № 126(5). – С. 19-21.

15. Abelli, L. Relative contribution of sympathetic and sensory nerves to thermal nociception and tissue trophism in rats / L Abelli, P. Geppetti, C.A. Maggi. – Text: electronic. – DOI: [10.1016/0306-4522\(93\)90020-g](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90020-g) // Neuroscience. – 1993. – № 57(3). – P. 739-745.

16. Abuaisa, B. B. et al. Acupuncture for the treatment of chronic painful peripheral diabetic neuropathy: a long-term study / B.B. Abuaisa, J.B. Costanzi, A.J. Boulton. – Text: unmediated // Diabetes Research and Clinical Practice. – 1998. – № 39(2). – P. 115- 121.

17. Airaksinen, M.S. et al. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value / M.S. Airaksinen, M. Saarna. – DOI: [10.1038/nrn812](https://doi.org/10.1038/nrn812). – Text: electronic // Nature Reviews Neuroscience. – 2002. – № 3 (5). – P. 383-394.

18. Alberch, J. et al. Neuroprotection by neurotrophins and GDNF family members in the excitotoxic model of Huntington's disease / J. Alberch, E. Perez-Navarro, J. M. Canals. – DOI: [10.1016/s0361-9230\(01\)00775-4](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(01)00775-4). – Text: electronic // Brain Research Bulletin. – 2002. – № 57 (6). – P. 817-22.

19. Allen, S. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration / S. Allen, J. J. Watson, D. K. Shoemark [et al] – DOI: [10.1016/j.pharmthera.2013.01.004](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.004). – Text: electronic // Pharmacology & Therapeutics. – 2013. – № 138 (2). – P. 55-175.

20. Aloe, L. et al. Changes of NGF level in mouse hypothalamus following intermale aggressive behaviour: biological and immunohistochemical evidence / L. Aloe, E. Alleva, R. De Simone. – Text: unmediated // Behavioural Brain Research. – 1990. – № 39(1). – P. 53-61.

21. Aloe, L. et al. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use / L. Aloe, M.L. Rocco, P. Bianchi, L. Manni. – Text: unmediated // Journal of Translational Medicine. – 2012. – № 10 (1). – P. 239.

22. Amendola, T. et al. Postnatal changes in nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor levels in the retina, visual cortex, and geniculate nucleus in rats with retinitis pigmentosa / T. Amendola, M. Fiore, L. Aloe. – DOI: [10.1016/s0304-3940\(03\)00491-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(03)00491-9). – Text: electronic // *Neuroscience Letters*. – 2003. – № 345 (1). – P. 37-40.

23. Amendola, T. Developmental expression of nerve growth factor in the eye of rats affected by inherited retinopathy: correlative aspects with retinal structural degeneration / T. Amendola, L. Aloe. – Text: unmediated // *Archives Italiennes de Biologie*. – 2002. – № 140(2). – P. 81-90.

24. Angelucci, F. The effect of neuropeptide Y on cell survival and neurotrophin expression in in-vitro models of Alzheimer's disease / F. Angelucci, F. Gelfo, M. Fiore. – Text: unmediated // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2014. – № 92. – P. 621-30.

25. Angelucci, F. et al. Alzheimer's disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI) patients are characterized by increased BDNF serum levels / F. Angelucci, G. Spalletta, F. di Iulio, A. Ciaramella, F. Salani, L. Colantoni. – Text: unmediated // *Current Alzheimer Research*. – 2010. – № 7. – P. 15-20.

26. Apfel, S. C. Nerve growth factor for the treatment of diabetic neuropathy: what went wrong, what went right, and what does the future hold? / S. C. Apfel. – Text: unmediated // *International Review of Neurobiology*. – 2002. – № 50. – P. 393-413.

27. Arendt, T. et al. Dendritic reorganisation in the basal forebrain under degenerative conditions and its defects in Alzheimer's disease. III. The basal forebrain compared with other subcortical areas / T. Arendt, M.K. Bruckner, V. Bigl, L. Marcova. – Text: unmediated // *Journal of Comparative Neurology*. – 1995. – № 351. – P. 223-46.

28. Balzamino, B. O. Characterization of NGF, trkA (NGFR), and p75 (NTR) in retina of mice lacking Reelin glycoprotein / B. O. Balzamino, F.

Biamonte, G. Esposito. – DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/725928> – Text: electronic // International Journal of Cell Biology. – 2014. – № 725928.

29. Bambo, M. Influence of cataract surgery on repeatability and measurements of spectral domain optical coherence tomography / E. Garcia-Martin, S. Otin, E. Sancho, I. Fuertes. – DOI: [10.1136/bjophthalmol-2013-303752](https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-303752) – Text: electronic // British Journal of Ophthalmology. – 2014. – № 98 (1). – P. 52-58.

30. Barker, R. A. GDNF and Parkinson's Disease: Where Next? A Summary from a Recent Workshop / R.A. Barker, A. Bjorklund, D.M. Gash [et al]. – DOI: [10.3233/JPD-202004](https://doi.org/10.3233/JPD-202004). – Text: electronic // Journal of Parkinson's Disease. – 2020. – № 10 (3). – Pp. 875-891.

31. Berger, E.A., et al. Evidence for pro-beta-nerve growth factor, a biosynthetic precursor to beta-nerve growth factor / E. A. Berger, E. M. Shooter. – Text: unmediated // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 1977. – 74 (9). – P. 3647-3651.

32. Bonini, S. Nerve growth factor (NGF): an important molecule for trophism and healing of the ocular surface / S. Bonini, L. Aloe, S. Bonini [et al]. – Text: unmediated // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2002. – № 506. – P. 531-537.

33. Bonini, S. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis / S. Bonini, A. Lambiase, P. Rama [et al]. – Text: unmediated // Ophthalmology, 2000. – 107 (7). – 1347-1351.

34. Budni, J. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease / J. Budni, T. Bellettini-Santos, F. Mina [et al]. – DOI: [10.14336/AD.2015.0825](https://doi.org/10.14336/AD.2015.0825). – Text: electronic // Aging and Disease. – 2015. – № 6. – P. 331-41.

35. Cacciamani, A. Inflammatory mediators in the vitreal reflux of patients with diabetic macular edema / A. Cacciamani, G. Esposito, F. Scarinci, M. Parravano, L. Dinice, M. Di Nicola, A. Micera [et al]. – Text: unmediated //

Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2019. – № 257(1). – P. 187–197.

36. Campbell, M. J. Statistics at square one / M. J. Campbell, T.D.V. Swinscow. – Text: unmediated // Chichester: John Wiley & Sons. – 2009. – 123 p.

37. Canu, N. et al. The intersection of NGF/TrkA signaling and amyloid precursor protein processing in Alzheimer's disease neuropathology / N. Canu, G. Amadoro, V. Triaca. – Text: unmediated // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – № 18 (6). – P.1319.

38. Cardoso, T. A. Neurotrophic Factors, Clinical Features and Gender Differences in Depression / T.A. Cardoso, T.C. Mondin, C.D. Wiener [et al]. – DOI: [10.1007/s11064-014-1349-4](https://doi.org/10.1007/s11064-014-1349-4). – Text: electronic // Neurochemical Research. – 2014. – № 39 (8). – P. 1571-1578.

39. Chalam, K.V., et al. Limitations in assessing nerve growth factor levels in aqueous humor samples from human eyes / K.V. Chalam, R.K. Sharma, R.K. Murthy. – DOI: [10.1186/1756-0500-1-22](https://doi.org/10.1186/1756-0500-1-22). – Text: electronic // BMC Research Notes. – 2008. – № 1. – P. 22.

40. Checa-Casalengua, P. Retinal ganglion cells survival in a glaucoma model by GDNF/Vit E PLGA microspheres prepared according to a novel microencapsulation procedure / P. Checa-Casalengua, C. Jiang, I. Bravo-Osuna [et al]. – DOI: [10.1016/j.jconrel.2011.06.023](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.06.023). – Text: electronic // Journal of Controlled Release. – 2011. – № 156(1). – P. 92-100.

41. Chen, Y. W. Significantly lower nerve growth factor levels in patients with major depressive disorder than in healthy subjects: a meta-analysis and systematic review / Y.W. Chen, P.E. Lin, K.Y. Tu [et al]. – DOI: [10.2147/NDT.S81432](https://doi.org/10.2147/NDT.S81432). – Text: electronic // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2015. – № 11. – P. 925-933.

42. Cheng, Y. et al. Cytokines concentrations in aqueous humor of eyes with uveal melanoma / Y. Cheng, J. Feng, X. Zhu, J. Liang. – DOI:

[10.1097/MD.00000000000014030](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014030). – Text: electronic // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – № 98(5). – P. 140-156.

43. Chiaretti, A. Nerve growth factor eye drop administration improves visual function in a patient with optic glioma / A. Chiaretti, B. Falsini, S. Servidei [et al]. – Text: unmediated // *Neurorehabilitation and Neural Repair*. – 2011. – № 25(4). – P. 386-390

44. Chowdhury, U. R. et al. Proteome analysis of human aqueous humor / U.R. Chowdhury, B.J. Madden, M.C. Charlesworth, M.P. Fautsch. – DOI: [10.1167/iovs.10-5531](https://doi.org/10.1167/iovs.10-5531). – Text: electronic // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2010. – № 51 (10). – P. 4921-4931.

45. Chung, E. S. Expression of Neurotrophic Factors and their Receptors in Keratoconic Cornea / E.S. Chung, K. H. Lee, M. Kim [et al]. – DOI: [10.3109/02713683.2013.774421](https://doi.org/10.3109/02713683.2013.774421). – Text: electronic // *Current Eye Research*. – 2013. – № 38(7). – P. 743-750.

46. Ciafrè, S. Nerve growth factor in the psychiatric brain / S. Ciafrè, G. Ferraguti, P. Tirassa [et al]. – DOI: [10.1708/3301.32713](https://doi.org/10.1708/3301.32713). – Text: electronic // *Rivista di Psichiatria*. – 2020. – № 55 (1). – P. 4-15.

47. Coassin, M. et al. Efficacy of topical nerve growth factor treatment in dogs affected by dry eye / M. Coassin, A. Lambiase, N. Costa, A. De Gregorio. – Text: unmediated // *Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2005. – № 243(2). – P. 151-155.

48. Colafrancesco, V. Ocular application of nerve growth factor protects degenerating retinal ganglion cells in a rat model of glaucoma / V. Colafrancesco, V. Parisi, V. Sposato [et al]. – Text: unmediated // *Journal of Glaucoma*. – 2011. – № 20 (2). – P. 100-108.

49. Cortes, M. NGF and iNOS changes in tears from video display terminal workers / M. Cortes, G. Esposito, R. Sacco [et al]. – Text: electronic. – DOI: [10.1080/02713683.2018.1475014](https://doi.org/10.1080/02713683.2018.1475014). – Text: electronic // *Current Eye Research*. – 2018. – № 43 (9). – P. 1119-1125.

50. Counts, S. E. et al. The role of nerve growth factor receptors in cholinergic basal forebrain degeneration in prodromal Alzheimer disease / S.E. Counts, E.J. Mufson. – Text: unmediated // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. – 2005. – № 64. – P. 263-72.

51. Cuello, A. C. Cholinergic involvement in Alzheimer's disease. A link with NGF maturation and degradation / A.C. Cuello, M.A. Bruno, S. Allard [et al]. – Text: unmediated // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2010. – № 40(1-2). – P. 230-235.

52. De Nadai, T. Precursor and mature NGF live tracking: one versus many at a time in the axons / T. De Nadai, L. Marchetti, C. Di Rienzo [et al]. – Text: unmediated // *Scientific Reports*. – 2016. – № 6. – P. 202-272.

53. Di, G. Corneal Epithelium-Derived Neurotrophic Factors Promote Nerve Regeneration / G. Di, X. Qi, X. Zhao [et al]. – DOI: [10.1167/iovs.16-21372](https://doi.org/10.1167/iovs.16-21372). – Text: electronic // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2017. – № 11. – P. 4695-4702.

54. Di Girolamo, N. Localization of the low-affinity nerve growth factor receptor p75 in human limbal epithelial cells / N. Di Girolamo, M. Sarris, J. Chui [et al]. – DOI: [10.1111/j.1582-4934.2008.00290.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00290.x). – Text: electronic // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2008. – № 12 (6B). – P. 2799-2811.

55. Diniz, B. S. et al. Reduced serum nerve growth factor in patients with late-life depression / B.S. Diniz, A.L. Teixeira, R. Machado-Vieira. – Text: unmediated // *The American Journal of Geriatric Psychiatry*. – 2013. – № 21(5). – P. 493-496.

56. Dissen, G. A. et al. Expression of neurotrophins and their receptors. in the mammalian ovary is developmentally regulated: changes at the time of folliculogenesis / G.A. Dissen, A.N. Hirshfield, S. Malamed, S.R. Ojeda. – Text: unmediated // *Endocrinology*. – 1995. – № 136(10). – P. 4681-4692.

57. Dua, H. S. et al. Limbal stem cells of the corneal epithelium / H. S. Dua, A. Azuara-Blanco. – Text: unmediated // Survey of Ophthalmology. – 2000. – № 44. – P. 415–425.
58. Dulz, S. Intravitreal Co-Administration of GDNF and CNTF Confers Synergistic and Long-Lasting Protection against Injury-Induced Cell Death of Retinal Ganglion Cells in Mice / S. Dulz, M. Bassal, K. Flachs [et al.]. – DOI: [10.3390/cells9092082](https://doi.org/10.3390/cells9092082). – Text: electronic // Cells. – 2020. – № 9 (9). – P.2082.
59. Duman, R. S. et al. A neurotrophic model for stress-related mood disorders / R.S. Duman, L.M. Monteggia. – Text: unmediated // Biological psychiatry. – 2006. – № 59 (12). – P. 1116-1127.
60. Durany, N. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 levels in Alzheimer's disease brains / N. Durany, T. Michel, J. Kurt [et al]. – Text: unmediated // International Journal of Developmental Neuroscience. – 2000. – № 18. – P. 807–813.
61. El-Ashry, M. et al. The effect of phacoemulsification cataract surgery on the measurement of retinal nerve fiber layer thickness using optical coherence tomography / M. El-Ashry, S. Appaswamy, S. Deokule, S. Pagliarini. – DOI: [10.1080/02713680600646882](https://doi.org/10.1080/02713680600646882). – Text: electronic // Current Eye Research. – 2006. – № 31 (5). – P. 409-413.
62. Eriksson, J. M. Intracerebroventricular infusion of nerve growth factor in three patients with Alzheimer's disease / J. M. Eriksson, A. Nordberg, K. Amberla [et al]. – Text: unmediated // Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. – 1998. – № 9 (5). – P. 246-257.
63. European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition. Ch. 2: Classification and terminology. – Text: unmediated // EGS Foundation British Journal of Ophthalmology. – 2017. – № 101(5). – P. 73-127.

64. Falsini, B. Topical nerve growth factor as a visual rescue strategy in pediatric optic gliomas: a pilot study including electrophysiology / B. Falsini, A. Chiaretti, G. Barone [et al.]. – Text: unmediated // *Neurorehabilitation & Neural Repair*. – 2011. – № 25 (6). – P. 512-520.

65. Falsini, B. Nerve growth factor improves visual loss in childhood optic gliomas: a randomized, double-blind, phase II clinical trial / B. Falsini, A. Chiaretti, D. Rizzo [et al.]. – Text: unmediated // *Brain*. – 2016. – № 139(Pt 2). – P. 404-414.

66. Falsini, B. NGF eye-drops topical administration in patients with retinitis pigmentosa, a pilot study / B. Falsini, G. Iarossi, A. Chiaretti [et al.]. – Text: unmediated // *Journal of Translational Medicine*. – 2016. – № 14 (1). – P. 8.

67. Fargali, S. Role of neurotrophins in the development and function of neural circuits that regulate energy homeostasis / S. Fargali, M. Sadahiro, C. Jiang [et al.]. – Text: unmediated // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2012. – № 3. – P. 654-659.

68. Faria, M. C. Increased plasma levels of BDNF and inflammatory markers in Alzheimer's disease / M. C. Faria, G. S. Gonçalves, N. P. Rocha [et al.]. – DOI: [10.1016/j.jpsychires.2014.01.019](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.01.019). – Text: electronic // *Journal of Psychiatric Research*. – 2014. – № 53. – P. 166-172.

69. Flachsbarth, K. Pronounced synergistic neuroprotective effect of GDNF and CNTF on axotomized retinal ganglion cells in the adult mouse / K. Flachsbarth, W. Jankowiak, K. Kruszewski [et al.]. – DOI: [10.1016/j.exer.2018.09.006](https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.09.006). – Text: electronic // *Experimental Eye Research*. – 2018. – № 176. – P. 258-265.

70. Gage, F. H. NGF receptor reexpression and NGF-mediated cholinergic neuronal hypertrophy in the damaged adult neostriatum / F.H. Gage, P. Batchelor, K. S. Chen [et al.]. – Text: unmediated // *Neuron*. – 1989. – № 2(2). – P. 1177-1184.

71. Garbayo, E. Long-term neuroprotection and neurorestoration by glial cell-derived neurotrophic factor microspheres for the treatment of Parkinson's Disease / E. Garbayo, E. Ansorena, J. L. Lanciego [et al.]. – DOI: [10.1002/mds.23793](https://doi.org/10.1002/mds.23793). – Text: electronic // *Movement Disorders Journal*. – 2011. – № 26 (10). – P. 1943–1947.

72. García-Caballero, C. Six-month delivery of GDNF from plga/vitamin E biodegradable microspheres after intravitreal injection in rabbits / C. García-Caballero, E. Prieto-Calvo, P. Checa-Casalengua [et al.]. – DOI: [10.1016/j.ejps.2017.02.037](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.02.037). – Text: electronic // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2017. – № 103. – P. 19-26.

73. Ghinelli, E. Nerve growth factor (NGF) and lenses: effects of NGF in an in vitro rat model of cataract / E. Ghinelli, L. Aloe, M. Cortes [et al.]. – DOI: [10.1007/s00417-003-0733-6](https://doi.org/10.1007/s00417-003-0733-6). – Text: electronic // *Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2003. – № 241 (10). – P. 845-851.

74. Gibbs, R. B. Expression of NGF receptor in the rat forebrain detected with in situ hybridization and immunohistochemistry / R. B. Gibbs, J. T. McCabe, C. R. Buck [et al.]. – Text: unmediated // *Molecular Brain Research*. – 1989. – № 6 (4). – P. 275-287.

75. Gonzalez-Ocampo-Dorta, S. et al. Effect of posterior capsular opacification removal on macular optical coherence tomography / S. Gonzalez-Ocampo-Dorta, J. J. Garcia-Medina, A. Feliciano-Sanchez, G. Scalerandi. – DOI: [10.1177/112067210801800319](https://doi.org/10.1177/112067210801800319). – Text: electronic // *European Journal of Ophthalmology* – 2008. – №18 (3). – P. 435-441.

76. H Qi, Expression of glial cell-derived neurotrophic factor and its receptor in the stem-cell-containing human limbal epithelium / H. Qi, D-Q. Li, F. Bian [et al.]. – DOI: [10.1136/bjo.2007.132431](https://doi.org/10.1136/bjo.2007.132431). – Text: electronic // *British Journal of Ophthalmology*. – 2008. – № 92 (9). – P. 1269-1274.

77. Hah, Y. S. Reduced NGF level promotes epithelial mesenchymal transition in human lens epithelial cells exposed to high dexamethasone

concentrations / Y. S. Hah, W. S. Yoo, S. Seo [et al]. – DOI: [10.1080/02713683.2019.1695844](https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1695844). – Text: electronic // Current Eye Research. – 2020. – № 45. – P. 686-695.

78. Hanumunthadu, D. Impact of retinal pigment epithelium pathology on spectral-domain optical coherence tomography-derived macular thickness and volume metrics and their intersession repeatability / D. Hanumunthadu, J.P. Wang, W. Chen [et al]. – DOI: [10.1111/ceo.12868](https://doi.org/10.1111/ceo.12868). – Text: electronic // Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2017. – № 45 (3). – P. 270-279.

79. Hauck, S. M. GDNF Family Ligands Trigger Indirect Neuroprotective Signaling in Retinal Glial Cells / S. M. Hauck, N. Kinkl, C. A. Deeg [et al]. – DOI: [10.1128/MCB.26.7.2746-2757.2006](https://doi.org/10.1128/MCB.26.7.2746-2757.2006). – Text: electronic // Molecular and Cellular Biology. – 2006. – № 26 (7). – P. 2746-2757.

80. Hefti, F. Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transections / F. Hefti. – Text: unmediated // Journal of Neuroscience. – 1986. – № 6(8). – P. 2155-2162.

81. Hefti, F. et al. Chronic intraventricular injections of nerve growth factor elevate hippocampal choline acetyltransferase activity in adult rats with partial septo-hippocampal lesions / F. Hefti, A. Dravid, J. Hartikka. – Text: unmediated // Brain Research. – 1984. – № 293 (2). – P. 305-311.

82. Hempstead, B. L. Deciphering proneurotrophin actions / B.L. Hempstead. – Text: unmediated // Handbook of Experimental Pharmacology. – 2014. – № 220. – P. 17-32.

83. Huang, Y. Signal quality assessment of retinal optical coherence tomography images / Y. Huang, S. Gangaputra, K. E. Lee [et al]. – DOI: [10.1167/iovs.11-8755](https://doi.org/10.1167/iovs.11-8755). – Text: electronic // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2012. – № 53(4). – P. 2133-2141.

84. Huston, C. et al. Guidelines for computing summary statistics for data-sets containing non-detects / C. Huston, E. Juarez-Colunga. – Text: electronic; Bulkley Department of Statistics and Actuarial Science, Simon Fraser

University. – 2009. – 19 Januar. – https://bvcentre.ca/files/research_reports/08-03GuidanceDocument.pdf.

85. Jiang, C. Intravitreal injections of GDNF-loaded biodegradable microspheres are neuroprotective in a rat model of glaucoma / C. Jiang, M. Moore, H. Zhang [et al]. – Text: unmediated // Molecular vision. – 2007. – № 13. – P. 1783-1792.

86. Kim, N. R. Influence of cataract on time domain and spectral domain optical coherence tomography retinal nerve fiber layer measurements / N. R. Kim, H. Lee, E. S. Lee [et al]. – DOI: [10.1097/IJG.0b013e31820277da](https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e31820277da) . – Text: electronic // Journal of Glaucoma. – 2012. – № 21 (2). – P. 116-122.

87. Kok, P. H. The relationship between the optical density of cataract and its influence on retinal nerve fibre layer thickness measured with spectral domain optical coherence tomography / P. H. Kok, T. J. P. van den Berg, H. W. van Dijk [et al]. – DOI: [10.1111/j.1755-3768.2012.02514.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2012.02514.x). – Text: electronic // Acta Ophthalmol. – 2013. – № 91(5). – P. 418-24.

88. Kolomeyer, A. M. et al. Trophic factors in the pathogenesis and therapy for retinal degenerative diseases / A. M. Kolomeyer, M. A. Zarbin. – DOI: [10.1016/j.survophthal.2013.09.004](https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2013.09.004). – Text: electronic // Survey of Ophthalmology. – 2014. – № 59 (2). – P. 134-65.

89. Korsching, S. Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation / S. Korsching, G. Auburger, R. Heumann [et al]. – Text: unmediated // EMBO Journal. – 1985. – № 4(6). – P.1389-1393.

90. Kretz, A. Regulation of GDNF and its receptor components GFR- α 1, - α 2 and Ret during development and in the mature retino-collicular pathway / A. Kretz, A. M. Jacob, S. Tausch [et al]. – DOI: [10.1016/j.brainres.2006.01.131](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.01.131). – Text: electronic // Brain Research. – 2006. – № 1090(1). – P.1-14.

91. Lambiase, A. et al. Intraocular production and release of nerve growth factor after iridectomy / A. Lambiase, S. Bonini, L. Manni [et al]. – Text:

unmediated // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2002. – № 43 (7). – P. 2334-2340.

92. Lambiase, A. Expression of nerve growth factor receptors on the ocular surface in healthy subjects and during manifestation of inflammatory diseases / A. Lambiase S. Bonini, A. Micera [et al]. – Text: unmediated // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 1998. – № 39 (7). – P. 1272-1275.

93. Lambiase, A. Alterations of tear neuromediators in dry eye disease / A. Lambiase, A. Micera, M. Sacchetti [et al]. DOI: [10.1001/archophthalmol.2011.200](https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2011.200). – Text: electronic // Archives of Ophthalmology. – 2011. – № 129 (8). – P. 981-986.

94. Lambiase, A. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers / A. Lambiase, P. Rama, S. Bonini [et al]. – DOI: [10.1056/NEJM199804233381702](https://doi.org/10.1056/NEJM199804233381702). – Text: electronic // New England Journal of Medicine. – 1998. – № 338 (17). – P. 1174-1180.

95. Lambiase, A. Molecular basis for keratoconus: Lack of TrkA expression and its transcriptional repression by Sp3 / A. Lambiase, D. Merlo, S. Bonini [et al]. – DOI: [10.1073/pnas.0508516102](https://doi.org/10.1073/pnas.0508516102). – Text: electronic // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2005. – 102 (46). – P. 16795-800.

96. Lambiase, A. et al. Nerve growth factor delays retinal degeneration in C3H mice / A. Lambiase, L. Aloe [et al]. – Text: unmediated // Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology. – 1996. – № 234 (Suppl. 1). – P. 96-100.

97. Lambiase, A. Experimental and clinical evidence of neuroprotection by nerve growth factor eye drops: Implications for glaucoma / A. Lambiase, L. Aloe, M. Centofanti [et al]. – Text: unmediated // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2009. – № 106 (32). – P. 13469-13474.

98. Lambiase, A. NGF topical application in patients with corneal ulcer does not generate circulating NGF antibodies / A. Lambiase, M. Coassin, V. Sposato [et al]. – Text: unmediated // *Pharmacological Research*. – 2007. – № 56(1). – P. 65-69.

99. Lambiase, A. Nerve growth factor eye drops improve visual acuity and electrofunctional activity in age-related macular degeneration: a case report / A. Lambiase, M. Coassin, P. Tirassa [et al]. – Text: unmediated // *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. – 2009. – № 45 (4). – P.439-442.

100. Lambiase, A. et al. Clinical application of nerve growth factor on human corneal ulcer / A. Lambiase, L. Manni, P. Rama, S. Bonini. – Text: unmediated // *Archives Italiennes de Biologie*. – 2003. – № 141 (2-3). – P. 141-148.

101. Lambiase, A. et al. Nerve growth factor eye drops to treat glaucoma / A. Lambiase, F. Mantelli, S. Bonini [et al]. – Text: unmediated // *Drug News & Perspectives*. – 2010. – № 23(6). – P. 361- 367.

102. Laske, C. Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease / C. Laske, E. Stransky, T. Leyhe [et al]. – Text: unmediated // *Journal of Neural Transmission*. – 2006. – № 113. – P. 1217–1224.

103. Lavker, R. M. et al. Epidermal stem cells: properties, markers, and location / R. M. Lavker, T. T. Sun. – Text: unmediated // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2000. – № 97. – P. 13473-13475.

104. Lawrenson, J. G. Corneal sensitivity in health and disease / J. G. Lawrenson. – Text: unmediated // *Ophthalmic and Physiological Optics*. – 1997. – № 17 (Suppl. 1). – P.17-22.

105. Lee, D. W. Effect of media opacity on retinal nerve fiber layer thickness measurements by optical coherence tomography / D.W. Lee, J.M. Kim, K.H. Park [et al]. – Text: unmediated // *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. – 2010. – № 5 (3). – P. 151-157.

106. Lee, H. K. Nerve growth factor concentration and implications in photorefractive keratectomy vs laser in situ keratomileusis / H. K. Lee, K. S. Lee, H. C. Kim [et al]. – DOI: [10.1016/j.ajo.2004.12.051](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2004.12.051). – Text: electronic // American Journal of Ophthalmology Case Reports. – 2005. – №139 (6). – P. 965-971.

107. Lee, R. Factors affecting signal strength in spectral-domain optical coherence tomography / R. Lee, Y. C. Tham, C. Y. Cheung [et al]. – DOI: [10.1111/aos.13443](https://doi.org/10.1111/aos.13443). – Text: electronic // Acta Ophthalmologica. – 2018. – № 96 (1). – P.54-58.

108. Lenzi, L. Effect of exogenous administration of nerve growth factor in the retina of rats with inherited retinitis pigmentosa / L. Lenzi, M. Coassin, A. Lambiase [et al]. – Text: unmediated // Vision Research. – 2005. – № 45 (12). – P. 1491-1500.

109. Levi-Montalcini, R. The nerve growth factor 35 years later / R. Levi-Montalcini. – DOI: [10.1126/science.3306916](https://doi.org/10.1126/science.3306916). – Text: electronic // Science. – 1987. – № 237. – P. 1154-1162.

110. Levi-Montalcini, R. Update of the NGF saga / R. Levi-Montalcini, R. Dal Toso, F. della Valle [et al]. – Text: unmediated // Journal of the Neurological Sciences. – 1995. – № 130 (2). – P. 119-127.

111. Lewin, G.R. et al. Physiology of the neurotrophins / G.R. Lewin, Y.A. Barde. – Text: unmediated // Annual Review of Neuroscience. –1996. – № 19. – P. 289-317.

112. Lin, L. F. Collins GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons / L.F. Lin, D.H. Doherty, J.D. Lile [et al]. – DOI: [10.1126/science.8493557](https://doi.org/10.1126/science.8493557). – Text: electronic // Science. – 1993. – № 260 (5111). – P. 1130-1132.

113. Malcangio, M. et al. Expression of astroglial nerve growth factor in damaged brain / M. Malcangio, N. E. Garrett, S. Cruwys, D. R. Tomlinson. –

Text: unmediated // *Acta neurobiologiae experimentalis*. – 1994. – № 54 (2). – P. 73-80.

114. Manni, L. Nerve growth factor: basic studies and possible therapeutic applications / L. Manni, M.L. Rocco, P. Bianchi [et al]. – Text: unmediated // *Growth Factors*. – 2013. – № 31 (4). – P. 115-122.

115. Martínez, H. J. et al. Nerve growth factor promotes cholinergic development in brain striatal cultures / H. J. Martínez, C. F. Dreyfus, G. M., Jonakait, I. B. Black. – Text: unmediated // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1985. – № 82 (22). – P.7777-7781.

116. Martino, M. et al. NGF serum levels variations in major depressed patients receiving duloxetine / M. Martino, G. Rocchi, A. Escelsior. – Text: unmediated // *Psychoneuroendocrinology*. – 2013. – № 38 (9). – P. 1824-1828.

117. Masoudi, R. Biological activity of nerve growth factor precursor is dependent upon relative levels of its receptors / R. Masoudi; M. S. Ioannou, M. D. Coughlin [et al]. – Text: unmediated // *Journal of Biological Chemistry*. – 2009. – № 284 (27). – P. 18424-18433.

118. Mätlik, K. Two-fold elevation of endogenous GDNF levels in mice improves motor coordination without causing side-effects / K. Mätlik, V. Voikar, C. Vilenius [et al]. – DOI: [10.1038/s41598-018-29988-1](https://doi.org/10.1038/s41598-018-29988-1). – Text: electronic // *Scientific Reports*. – 2018. – № 8 (1). – P. 118-161.

119. Mauschitz, M. The impact of lens opacity on SD-OCT retinal nerve fiber layer and Bruch's membrane opening measurements using the anatomical positioning system (APS) / M. Mauschitz, F. Roth, F. Holz, M. Breteler, R. Finger. DOI: [10.1167/iovs.17-21675](https://doi.org/10.1167/iovs.17-21675) – Text: electronic // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2017. – № 58 (5). – P. 2804-2809.

120. Mensher, J. H. Corneal nerves / J.H. Mensher. – Text: unmediated // *Survey of Ophthalmology*. – 1974. – № 19 (1). – P. 1- 18.

121. Micera, A. Nerve growth factor involvement in the visual system: implications in allergic and neurodegenerative diseases / A. Micera, A. Lambiase,

L. Aloe, [et al]. – DOI: [10.1016/j.cytogfr.2004.09.003](https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2004.09.003). – Text: electronic // Cytokine & Growth Factor Reviews. – 2004. – № 15 (6). – P. 411-417.

122. Mills, R. P. et al. Categorizing the stage of glaucoma from pre-diagnosis to end-stage disease / R. P. Mills, D. L. Budenz, P. P. Lee. – Text: unmediated // American Journal of Ophthalmology. – 2006. – Vol. 141. – № 1. – P. 24-30.

123. Minnone, G. et al. NGF and its receptors in the regulation of inflammatory response / G. Minnone, F. De Benedetti, L. Bracci-Laudiero. – Text: unmediated // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – № 18 (5). – P. 1028.

124. Mondal, A. C. et al. Direct and indirect evidences of BDNF and NGF as key modulators in depression: Role of antidepressants treatment / A. C. Mondal, M. Fatima. – DOI: [10.1080/00207454.2018.1527328](https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1527328). – Text: electronic // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – № 129 (3). – P. 283-296.

125. Muresanu, D. F. Neurotrophic factors / D. F. Muresanu. – Text: unmediated. – Bucuresti: Libripres, 2003. – 464 p.

126. Muzi, S. Nerve growth factor in the developing and adult lacrimal glands of rat with and without inherited retinitis pigmentosa / S. Muzi, V. Colafrancesco, F. Sornelli [et al]. – DOI: [10.1097/ICO.0b013e3181d3d3f9](https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181d3d3f9). – Text: electronic // Cornea. – 2010. – № 29 (10). – P. 1163-1168.

127. Mwanza, J. et al. Effect of cataract and its removal on signal strength and peripapillary retinal nerve fiber layer optical coherence tomography measurements / J. Mwanza, A. Bhorade, N. Sekhon. – DOI: [10.1097/IJG.0b013e3181ccb93b](https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181ccb93b). – Text: electronic // Journal of Glaucoma. – 2011. – № 20 (1). – P. 37-43.

128. Nakatani, Y. Effect of cataract and its removal on ganglion cell complex thickness and peripapillary retinal nerve fiber layer thickness measurements by fourier-domain optical coherence tomography / Y. Nakatani, T.

Higashide, S. Ohkubo [et al]. – DOI: [10.1097/IJG.0b013e3182894a16](https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3182894a16). – Text: electronic // Journal of Glaucoma. – 2013. – № 22 (6). – P. 447-455.

129. Neugebauer, K. Nerve growth factor serum levels are associated with regional gray matter volume differences in schizophrenia patients / K. Neugebauer, C. Hammans, T. Wensing [et al]. – DOI: [10.3389/fpsy.2019.00275](https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00275). – Text: electronic // Front Psychiatry. – 2019. – № 10. – P. 275.

130. Nykjaer, A. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death / A. Nykjaer, R. Lee, K. K. Teng [et al]. – Text: unmediated // Nature. – 2004. – № 427(6977). – P. 843-848.

131. Oddone, F. Exploring serum levels of brain derived neurotrophic factor and nerve growth factor across glaucoma stages / F. Oddone, G. Roberti, A. Micera [et al]. – DOI: [10.1371/journal.pone.0168565](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168565). – Text: electronic // PLoS One. – 2017. – № 12. – P. 168-176.

132. Oh-hashii, K. Biosynthesis, processing, and secretion of glial cell line-derived neurotrophic factor in astroglial cells / K. Oh-hashii, M. Ito, T. Tanaka [et al]. – DOI: [10.1007/s11010-008-9958-3](https://doi.org/10.1007/s11010-008-9958-3). – Text: electronic // Molecular and Cellular Biochemistry. – № 323 (1-2). – P. 1-7.

133. Okragly, A. J. et al. An acid-treatment method for the enhanced detection of GDNF in biological samples / A. J. Okragly, M. Haak-Frendscho. – Text: unmediated // Experimental Neurology. – 1997. – № 145. – P. 592-596.

134. Olson, L. NGF and the treatment of Alzheimer's disease / L. Olson. – Text: unmediated // Experimental Neurology. – 1993. – № 124 (1). – P. 5-15.

135. Olson, L. Intraputaminial infusion of nerve growth factor to support adrenal medullary autografts in Parkinson's disease. One-year follow-up of first clinical trial / L. Olson, E.O. Backlund, T. Ebendal [et al]. – Text: unmediated // Archives of Neurology. – 1991. – № 48 (4). – P. 373-381.

136. Olson, L. Nerve growth factor affects 11C-nicotine binding, blood flow, EEG, and verbal episodic memory in an Alzheimer patient (case report) / L. Olson, A. Nordberg, H. von Holst [et al]. – Text: unmediated // Journal of Neural

Transmission - Parkinson s Disease and Dementia Section – 1992. – № 4 (1). – P. 79-95.

137. Pallavi, P. Serum neurotrophic factors in adolescent depression: Gender difference and correlation with clinical severity / Pallavi P, R. Sagar, M. Mehta [et al]. – DOI: [10.1016/j.jad.2013.04.033](https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.04.033). – Text: electronic // Journal of Affective Disorders. – 2013. – № 150 (2). – P. 415-23.

138. Pan, W. et al. Kastin Permeability of the blood- brain barrier to neurotrophins / W. Pan, W.A. Banks, A. J. Kastin. – Text: unmediated // Brain Research. – 1998. – № 788 (1-2). – P. 87-94.

139. Parikh, V. et al. Diminished trkA receptor signaling reveals cholinergic-attentional vulnerability of aging / V. Parikh, W.M. Howe, R.M. Welchko. – Text: unmediated // European Journal of Neuroscience. – 2013. – № 37. – P. 278-293.

140. Park, K. S. Serum and tear levels of nerve growth factor in diabetic retinopathy patients / K.S. Park, S.S. Kim, J. C. Kim [et al]. – DOI: [10.1016/j.ajo.2007.11.011](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.11.011). – Text: electronic // American Journal of Ophthalmology. – 2008. – № 145 (3). – P. 432-437.

141. Pertusa, M. et al. Expression of GDNF transgene in astrocytes improves cognitive deficits in aged rats / M. Pertusa, S. García-Matas, H. Mammeri, – DOI: [10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.026](https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.026). – Text: electronic // Neurobiology of Aging. – 2008. – № 29 (9). – P.1366-1379.

142. Pizzorusso, T. et al. Role of neurotrophins in the development and plasticity of the visual system: experiments on dark rearing / T. Pizzorusso, M. Fagiolini, L. Gianfranceschi, V. Porciatti, L. Maffei. – DOI: [10.1016/s0167-8760\(99\)00053-7](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(99)00053-7). – Text: electronic // International Journal of Psychophysiology. – 2000. – № 35 (2-3). – P.189-196.

143. Qia, H. Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor Gene Delivery Enhances Survival of Human Corneal Epithelium in Culture and the Overexpression of GDNF in Bioengineered Constructs / H. Qia, D. H. Shineb, D.

Q. Lia [et al]. – Text: unmediated // *Experimental Eye Research*. – 2008. – № 87 (6). – P. 580–586.

144. Raychaudhuri, S. K. et al. Effect of nerve growth factor on endothelial cell biology: proliferation and adherence molecule expression on human dermal microvascular endothelial cells / S. K. Raychaudhuri, S. P. Raychaudhuri, H. Weltman, E.M. Farber. – Text: unmediated // *Archives of Dermatological Research*. – 2001. – № 293 (6). – P. 291-295.

145. Roberti, G. Nerve growth factor modulation of retinal ganglion cell physiology / G. Roberti, F. Mantelli, I. Macchi [et al]. – DOI: [10.1002/jcp.24573](https://doi.org/10.1002/jcp.24573). – Text: electronic // *Archives of Dermatological Research*. – 2014. – № 229. – P. 1130-1133.

146. Rocco, M. L. NGF/anti-VEGF combined exposure protects RCS retinal cells and photoreceptors that underwent a local worsening of inflammation / M. L. Rocco, B. O. Balzamino, G. Esposito [et al]. – Text: unmediated // *Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2017. – № 255 (3). – P. 567–574.

147. Rocco, M. L. et al. Nerve growth factor: early studies and recent clinical trials / M.L. Rocco, M. Soligo, L. Manni, L. Aloe. – DOI: [10.2174/1570159X16666180412092859](https://doi.org/10.2174/1570159X16666180412092859). – Text: electronic // *Current Neuropharmacology*. – 2018. – № 16. – P. 1455-1465.

148. Sack, R. A. Membrane Array Characterization of 80 Chemokines, Cytokines, and Growth Factors in Open- and Closed-Eye Tears: Angiogenin and Other Defense System Constituents / R.A. Sack, L. Conradi, D. Krumholz [et al]. – DOI: [10.1167/iovs.04-0760](https://doi.org/10.1167/iovs.04-0760). – Text: electronic // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2005. – № 46 (4). – P. 1228-1238.

149. Sampaio, T. B. et al. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy / T.B. Sampaio, A.S. Savall, M.E.Z. Gutierrez, S. Pinton. – DOI: [10.4103/1673-5374.205084](https://doi.org/10.4103/1673-5374.205084). –

Text: electronic // Neural Regeneration Research. – 2017. – № 12 (4). – P. 549-557.

150. Sanchez-Cano, A. et al. The effect of phacoemulsification cataract surgery on polarimetry and tomography measurements for glaucoma diagnosis / A. Sanchez-Cano, L.E. Pablo, J.M. Larrosa, V. Polo DOI: [10.1097/IJG.0b013e3181c4aed8](https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181c4aed8). – Text: electronic // Journal of Glaucoma. – 2010. – № 19 (7). – P. 468-474.

151. Savini, G. et al. Influence of pupil size and cataract on retinal nerve fiber layer thickness measurements by Stratus OCT / G. Savini, M. Zanini, P. Barboni. – DOI: [10.1097/01.ijg.0000212244.64584.c2](https://doi.org/10.1097/01.ijg.0000212244.64584.c2). – Text: electronic // Journal of Glaucoma. – 2006. – № 15 (4). – P. 336–340.

152. Schaeffer, E. L. et al. Cholinergic and glutamatergic alterations beginning at the early stages of Alzheimer disease: participation of the phospholipase A2 enzyme / E.L. Schaeffer, W.F. Gattaz // Psychopharmacology (Berl.). – 2008. – № 198 (1). – P. 1-27.

153. Scott, S. A. Nerve growth factor in Alzheimer's disease: increased levels throughout the brain coupled with declines in nucleus basalis / S.A. Scott, E.J. Mufson, J.A. Weingartner [et al]. – Text: unmediated // Journal of Neuroscience. – 1995. – № 15. – P. 6213-6221.

154. Seiler, M. et al. Specific retrograde transport of nerve growth factor (NGF) from neocortex to nucleus basalis in the rat / M. Seiler, M. E. Schwab. – Text: unmediated // Brain Research. – 1984. – № 300 (1). – P.33-39.

155. Sharif, M. et al. Do serum GDNF levels correlate with severity of Alzheimer's disease? / M. Sharif, M. Noroozian, F. Hashemian. – DOI: [10.1007/s10072-020-04909-1](https://doi.org/10.1007/s10072-020-04909-1). – Text: electronic // Neurological Sciences. – 2020. – № 42 (7).

156. Shooter, E.M. Early days of the nerve growth factor proteins / E.M. Shooter. – Text: unmediated // Annual Review of Neuroscience. – 2001. – № 24. – P. 601-629.

157. Shpak, A. A. et al. Comparison of measurement error of Cirrus HD-OCT and Heidelberg Retina Tomograph 3 in patients with early glaucomatous visual field defect / A.A. Shpak, M.K. Sevostyanova, S.N. Ogorodnikova, I.N. Shormaz. – DOI: [10.1007/s00417-011-1808-4](https://doi.org/10.1007/s00417-011-1808-4). – Text: electronic // Graefes Archive For Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2012. – № 250 (2). – P. 271-277.

158. Skaper, S. D. Neurotrophic factors. Methods and protocols. – Text: unmediated. – New York: Springer, 2019. – 456 p.

159. Skaper, S. D. Neurotrophic factors: an overview / S. D. Skaper – Text: unmediated. // Methods Mol Biol. – 2018. – № 1727. – P.1-17.

160. Straten, G. Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor (GDNF) Concentrations in Cerebrospinal Fluid and Serum of Patients with Early Alzheimer's Disease and Normal Controls / G. Straten, G.W. Eschweiler, W. Maetzler [et al]. – DOI: [10.3233/JAD-2009-1146](https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1146). – Text: electronic // Journal of Alzheimer's Disease. – 2009. – № 18 (2). – P. 331-337.

161. Tang, X. Serum BDNF and GDNF in Chinese male patients with deficit schizophrenia and their relationships with neurocognitive dysfunction / X. Tang, C. Zhou, G. Ju [et al]. – DOI: [10.1186/s12888-019-2231-3](https://doi.org/10.1186/s12888-019-2231-3). – Text: electronic // BMC Psychiatry. – 2019. – № 19(1). – P. 254.

162. Thygefors, B. WHO Cataract Grading Group. A simplified cataract grading system / B. Thygefors, L. T. Chylack, K. Konyama [et al]. – DOI: [10.1076/oep.9.2.83.1523](https://doi.org/10.1076/oep.9.2.83.1523). – Text: electronic // Ophthalmic Epidemiology. – 2002. – № 9 (2). – P. 83-95.

163. Torcia, M. Nerve growth factor is an autocrine survival factor for memory B lymphocytes / M. Torcia, L. Bracci-Laudiero, M. Lucibello [et al]. – Text: unmediated // Cell. – 1996. – № 85 (3). – P. 345-356.

164. Tseng, P. T. et al. Age-associated decrease in serum glial cell line-derived neurotrophic factor levels in patients with major depressive disorder / P.T. Tseng, L. Yu, P.Y. Lin. – DOI: [10.1016/j.pnpbp.2012.09.009](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.09.009). – Text: electronic

// Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. – 2013. – № 40. – P. 334-339.

165. Tunca, Z. Alterations in BDNF (brain derived neurotrophic factor) and GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) serum levels in bipolar disorder: The role of lithium / Z. Tunca, A. Ozerdem, D. Ceylan [et al]. – DOI: [10.1016/j.jad.2014.05.012](https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.05.012). – Text: electronic // Journal of Affective Disorders. – 2014. – № 166. – P. 193-200.

166. van Velthoven, M. E. et al. Influence of cataract on optical coherence tomography image quality and retinal thickness / M.E. van Velthoven, M.H. van der Linden, M.D. de Smel. – DOI: [10.1136/bjo.2004.097022](https://doi.org/10.1136/bjo.2004.097022). – Text: electronic // British Journal of Ophthalmology. – 2006. – № 90. – (10). – P. 1259-1562.

167. Whittemore, S. R. et al. The expression, localization and functional significance of beta-nerve growth factor in the central nervous system / S.R. Whittemore, A. Seiger. – Text: unmediated // Brain Research. – 1987. – № 434 (4). – P. 439-464.

168. Xiao, J. H. et al. Neuroprotection of retinal ganglion cells with GDNF-Loaded biodegradable microspheres in experimental glaucoma / J.H. Xiao, M.N. Zhang. – DOI: [10.3980/j.issn.2222-3959.2010.03.01](https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2010.03.01). – Text: electronic // International Journal of Ophthalmology. – 2010. – № 3 (3). – P. 189-191.

169. Xiong, P. et al. The role of NGF and IL-2 serum level in assisting the diagnosis in first episode schizophrenia / P. Xiong, Y. Zeng, J. Wan // Psychiatry Research. – 2011. – № 189 (1). – P. 72-76.

170. Xu, C-J. et al. The emerging therapeutic role of NGF in Alzheimer's disease / C-J. Xu, J-L. Wang, W-L. Jin // Neurochemical Research. – 2016. – № 41. – P.1211-1218.

171. Xu, J. B. Serum nerve growth factor level indicates therapeutic efficacy of 125I seed implantation in advanced pancreatic adenocarcinoma / J. B.

Xu, X. C. Yang, J. H. Guo [et al]. – Text: unmediated // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – № 19 (18). – P. 3385-3390.

172. Yang, Y. The association of decreased serum GDNF level with hyperglycemia and depression in type 2 Diabetes Mellitus / B. Xie, C. Ju, H. Jin [et al]. – DOI: [10.4158/EP-2018-0492](https://doi.org/10.4158/EP-2018-0492). – Text: electronic // Endocrine Practice. – 2019. – № 25 (9). – P. 951-965.

173. Yegla, B. et al. Effects of sustained pro NGF blockade on attentional capacities in aged rats with compromised cholinergic system / B. Yegla, V. Parikh. – Text: unmediated // Neuroscience. – 2014. – № 261. – P. 118-32.

174. You, L. et al. Neurotrophic Factors in the Human Cornea / L. You, F.E. Kruse, H.E. Volcker. – Text: unmediated // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2000. – № 41(3). – P. 692-702.