

На правах рукописи

**Андрянова Екатерина Владимировна**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ  
ЦИКЛОКОАГУЛЯЦИИ КАК ОДНОГО ИЗ МЕТОДОВ  
АУТОБИОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ГЛАУКОМНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ  
НЕЙРОПАТИИ**

14.01.07 - глазные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**Москва – 2011**

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Егоров Алексей Евгеньевич**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Большунов Андрей Валентинович**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Алексеев Игорь Борисович**

**Ведущая организация:** Российский университет дружбы народов.

Защита состоится «25 апреля» 2011 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Учреждении Российской академии медицинских наук Научно-исследовательском институте глазных болезней РАМН по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д. 11А,Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИГБ РАМН

Автореферат разослан «23 марта» 2011 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

2011А  
6055

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Глаукома является одной из наиболее актуальных и важных проблем в офтальмологии, имеющей большое медико-социальное значение ввиду высокой распространенности и тяжести исходов заболевания, нередко ведущих к слепоте и инвалидности. Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении этого заболевания, в мире отмечается тенденция к росту числа больных.

В современной литературе и клинической практике большое внимание уделяется коррекции метаболических изменений сетчатки и зрительного нерва у пациентов с глаукомной оптической нейропатией. Проявлениями метаболических нарушений являются ухудшение тканевого дыхания, замедление процессов световосприятия, дефицит в клетках высокоэнергетических соединений, таких как: аденозинтрифосфат (АТФ) - служит источником энергии для всех биологических процессов в организме, принимает участие в зрительном каскаде; гуанозинтрифосфат (ГТФ) - так же участвует в процессе световосприятия; нуклеозиддифосфаткиназа (НДФК) - фермент, катализирует реакции высокоэнергетических соединений и обеспечивает нормальную жизнедеятельность клетки.

Для коррекции метаболических изменений используют методы «аутобиотерапии», одним из которых и является модифицированная лазерная циклокоагуляция (МЛЦК). Она оказывает выраженное влияние на метаболические процессы в заднем отрезке глаза. В 2000 году академиком А.П. Нестеровым была предложена концепция «ограниченного управляемого воспаления», когда в ответ на дозированное повреждающее воздействие образуется локальный воспалительный очаг, и происходит запуск каскада биохимических реакций, приводящих к выработке организмом собственных биологически активных веществ, которые благотворно влияют на сосудистый тонус, уровень метаболизма, основные биохимические зрительные реакции.

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
С.-Петербург  
09 2001/кт 279

По мнению А.П. Нестерова особенности строения стекловидного тела обеспечивают доставку биологически активных веществ к сетчатке и зрительному нерву при использовании предлагаемой методики, и предполагают возможность депонирования этих веществ в стекловидном теле и дальнейшего воздействия на структуры заднего сегмента глаза.

Поэтому, учитывая вышесказанное, назрела необходимость в проведении клинических исследований и серии биохимических испытаний на экспериментальном уровне, что и определяет актуальность выбранной темы.

Целью данной работы явилось экспериментально-клиническое обоснование эффективности модифицированной лазерной циклокоагуляции, как одного из методов аутобиотерапии в лечении глаукомной оптической нейропатии.

Для достижения цели исследования были определены следующие задачи:

1. Исследовать активность фермента НДФК в сетчатке и зрительном нерве после проведения гипотензивной и трофической МЛЦК в эксперименте на лабораторных животных.
2. Оценить в эксперименте количественное содержание АТФ и ГТФ в сетчатке и зрительном нерве после проведения гипотензивной и трофической МЛЦК.
3. Изучить уровень обменных процессов сетчатки и зрительного нерва после МЛЦК в эксперименте и в клинике.
4. Провести клиническое исследование слезы методом кристаллографии после МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии.
5. Провести клинический анализ влияния на зрительные функции МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии.
6. Разработать показания и противопоказания к МЛЦК, алгоритм и клинические рекомендации по использованию МЛЦК для повышения эффективности лечения больных с глаукомной оптической нейропатией.

## **Научная повязка**

1. Доказано повышение активности фермента НДФК в сетчатке и зрительном нерве после проведения гипотензивной и трофической МЛЦК в эксперименте на лабораторных животных.
2. Доказано в эксперименте повышение содержания АТФ и ГТФ в сетчатке и зрительном нерве после проведения гипотензивной и трофической МЛЦК.
3. Впервые количественно оценены метаболические изменения, происходящие в глазу, при использовании МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии.
4. Впервые оценена возможность применения метода кристаллографии, разработана методика по его использованию у больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) в развитой и далеко зашедшей стадиях после проведения МЛЦК.
5. Определена клиническая эффективность МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии, сочетающая в себе гипотензивное влияние и метаболическое действие, проявляющееся в положительном изменении зрительных функций у больных ПОУГ в развитой стадии.
6. Определена клиническая эффективность МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии, сочетающая в себе гипотензивное влияние и метаболическое действие, проявляющееся в положительном изменении зрительных функций у больных ПОУГ в далеко зашедшей стадии.
7. Разработаны показания и противопоказания, алгоритм и клинические рекомендации по применению МЛЦК для лечения больных с глаукомной оптической нейропатией.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Использование МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии, повышает активность фермента НДФК в сетчатке и зрительном нерве, являющегося катализатором высокоэнергетических процессов.

2. Применение гипотензивной и трофической МЛЦК увеличивает содержание АТФ и ГТФ в сетчатке и зрительном нерве, являющихся маркерами повышения уровня метаболических процессов.
3. МЛЦК, как метод аутобиотерапии, нормализует кристаллографическую картину слезы у больных ПОУГ в развитой и далеко зашедшей стадиях.
4. МЛЦК, как метод аутобиотерапии, восстанавливает зрительные функции у больных ПОУГ в развитой и далеко зашедшей стадиях.

#### **Практическая ценность работы**

1. Выявлена активизация метаболических процессов в глазном яблоке (в сетчатке и зрительном нерве) после гипотензивной и трофической МЛЦК.
2. Использована методика кристаллографии слезы у больных ПОУГ в развитой и далеко зашедшей стадиях после проведения гипотензивной МЛЦК.
3. Доказана активизация обменных процессов глаза при использовании МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии в клинической практике.
4. Внедрение методики, использующей управляемое и ограниченное воспаление в сочетании с кристаллографией, дает возможность повысить результативность лечения больных с глаукомной оптической нейропатией, наглядно изучить и показать её эффективность.
5. Разработаны показания и противопоказания, алгоритм и клинические рекомендации по применению МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии для лечения пациентов с глаукомной оптической нейропатией.

#### **Внедрение результатов работы**

Методики внедрены в клиническую практику лазерного, 13-го и 15-го глазных отделений ГКБ № 15 города Москвы имени О. М. Филатова, Московского городского глаукомного центра.

#### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены на:

1. Научно-практической конференции «Актуальные проблемы здравоохранения» МЛПУ ПРБ (Пушкино, 2009);
2. Конференции «Молодые учёные» МНТК (Москва, 2009);

3. IX Всероссийской школе офтальмолога (Москва, 2010);
4. Межрегиональной научно-практической конференции «Глаукома: этиопатогенез, клиника, лечение» (Рязань, 2010).

#### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 11 статей, в том числе 3 из них в рецензируемых журналах, подана заявка № 2010124285 на изобретение.

#### **Объем проведенных исследований**

Экспериментальные исследования проведены на 36 кроликах (72 глаза). Клинические исследования выполнены на 74 пациентах (139 глаз). Полученные в работе данные обработаны стандартными методами вариационной статистики с выделением значимости различий по критерию Стьюдента на ПЭВМ IBM в программе Microsoft Excel 2007.

#### **Объем и структура работы**

Работа изложена на 156 страницах машинописи, иллюстрирована 59 рисунками, содержит 9 таблиц. Список использованной литературы включает 256 источников, из них 126 отечественных и 130 иностранных авторов. Диссертация состоит из введения; обзора литературы; 4 глав, содержащих данные собственных исследований и обсуждения; выводов; практических рекомендаций; списка использованной литературы.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

#### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальная часть работы проводилась на базе Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН на половозрелых кроликах породы серая шиншилла. Использовались животные массой 2,5–3 кг. Для выявления биохимических изменений, возникающих при воздействии излучения полупроводникового диодного лазера на глаз, была сформирована группа из 36 животных (72 глаза). Контролем служили 36 парных глаз без проведения МЛЦК. Операция проводилась на левых глазах кроликов. Правые глаза служили контролем.

Забор биологического материала производился через: 1 час, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 часов после нанесения лазерных коагулятов. Выведение кроликов из опыта осуществлялось путем введения 3,0 мл 0,25 % водного раствора галоперидола в ушную вену. Глазные яблоки удаляли с участком зрительного нерва. Энуклеированные глаза помещали в пробные стерильные пробирки и замораживали путем погружения в жидкий азот.

В первую серию экспериментов было включено 18 животных (36 глаз), которым проводили гипотензивную МЛЦК (ГМЛЦК) и определяли активности НДФК (подгруппа 1а) и динамику содержания АТФ и ГТФ (подгруппа 1б) в ткани.

Во вторую экспериментальную серию вошли 18 животных (36 глаз), которым выполняли трофическую МЛЦК (ТМЛЦК) и определяли активности НДФК (подгруппа 2а) и динамику содержания АТФ и ГТФ (подгруппа 2б) в ткани.

Операции производили на левых глазах животных, правые служили контролем.

Техника проведения ГМЛЦК: После местной анестезии с помощью контактного лазерного зонда с умеренным вдавлением склеры в 2 – 3 мм от хирургического лимба в зоне проекции отростков цилиарного тела концентрично с 2 до 10 часов по ходу часовой стрелки наносятся 25 лазерных коагулятов. Режим работы лазера: мощность – 0,8 Вт, экспозиция – 3 с. [Кац Д.В.].

Техника проведения ТМЛЦК: После местной анестезии с помощью контактного лазерного зонда с умеренным вдавлением склеры в 4 – 6 мм от хирургического лимба в области плоской части цилиарного тела на 1 – 2 часах (между верхней прямой и наружной прямой мышцами) в шахматном порядке в 3 ряда наносятся 7 – 8 лазерных коагулятов. Режим работы лазера: мощность – 0,5 Вт, экспозиция 3 – с [Кац Д.В.].

Приготовление смеси образца: Замороженная в жидком азоте ткань (энуклеированный глаз) взвешивается и механически измельчается.



Измельченный образец экстрагируется буфером «А». Суспензия переносится в пластиковый флакон и 1 мл суспензии в течение 5 минут осветляется центрифугированием со скоростью 14000 об/мин. После центрифугирования осадок удаляется.

Определение активности НДФК в биологических образцах осуществляется с помощью тонкослойной хроматографии по реакции переноса радиоактивной фосфатной группы от донора АТФ к акцептору – УДФ. К части приготовленной реакционной смеси добавляется 5 мкл испытуемого раствора (осветленного экстракта) и смесь инкубируется 15 минут при температуре 37°C. В качестве отрицательного контроля вместо экстракта добавляется 5 мкл буфера «А». В качестве положительного контроля использовался препарат НДФК, выделенный из *E. coli*, с известными характеристиками.

После инкубации из каждой реакционной смеси аликвоты по 1 мкл наносятся на пластинку с РЕИ-целлюлозой (полиэтилениминцеллюлоза используется при проведении бумажной ионно-обменной хроматографии). Пластинка высушивается и экспонируется на фосфоимиджере «Hewlett-Packard» для измерения распределения радиоактивности в режиме реального времени.

Соотношение радиоактивности в продуктах реакции позволяет рассчитать ферментативную активность исследуемой аликвоты. Расчет активности осуществляется по стандартной методике.

$$\% = \frac{\text{УДФ}}{\text{УДФ} + \text{АТФ}} \times 100\%$$

Для каждой аликвоты доля израсходованного в реакции АТФ умножается на  $2 \times 10^{-9}$  моль и делится на 15 минут (время ферментативной реакции). В результате получается количество АТФ в минутах, которое было израсходовано в реакции исследуемого образца. Перерасчитываем на разведение от исходного объема и делим активность на количество (массу) изначального материала (энуклеированного глаза). Получается удельная активность фермента НДФК, т.е. ферментативная активность 1 мг ткани исследуемых образцов.

Содержание АТФ и ГТФ в биологических образцах определяется с помощью колоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии методом внутреннего стандарта. К раствору образца добавляется известное количество стандартного раствора и смесь подвергается хроматографическому разделению на колонке Lihrosorb. Оптическая плотность элюата определяется проточным УФ-детектором и анализируется количественно по программе Амперстед для количественного анализа хроматограмм. Соотношение количества АТФ и ГТФ с известным стандартом (2'-дезоксаденозином) дает возможность определить их содержание в анализируемой пробе.

К 100 мкл ранее приготовленной реакционной смеси добавляется 100 мкл охлажденного этилового спирта. Смесь перемешивается и после формирования осадка вновь центрифугируется со скоростью 14000 оборотов в минуту в течение 10 мин. Осадок удаляется, а супернатант упаривается досуха на вакуумном концентраторе. Осадок растворяется в 20 мкл воды, к раствору добавляется 2 мкл 1 мМ раствора 2'-дезоксаденозина и анализируют на хроматографе «Gilson» с использованием хроматографической колонки.

Содержание АТФ и ГТФ приведено в нмоль на образец, что соответствует 1/280 части всего гомогенизированного органа. Содержание АТФ и ГТФ в органе пересчитано в нмоль/мг ткани, исходя из результатов анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии и веса ткани.

Клинические исследования проводились на кафедре офтальмологии ГОУ ВПО РГМУ «Росздрава» на базе ГКБ № 15 им. О.М. Филатова города Москвы. Всего под наблюдением находилось 74 пациента (139 глаз). Возраст больных находился в пределах 68-77 лет. Среди пациентов было 48 женщины (64,9 %) и 26 мужчин (34,1 %) с диагнозом ПОУГ в развитой и далеко зашедшей стадиях и неконтролируемым медикаментозно ВГД.

Все пациенты до операции получали местную гипотензивную терапию: 2-х разовые инстилляциии 0,5 % раствора тимолола малеата, 2-х разовые инстилляциии 1 % раствора бринзоламида. Все больные были распределены на 2 группы в зависимости от стадии ПОУГ.

В первую группу вошли 30 пациентов (30 глаз) с развитой ПОУГ (40,5 %) с умеренно высоким ВГД. Истинное ВГД на фоне лечения находилось в пределах 25 – 27 мм рт. ст. Сужение полей зрения соответствовало развитой стадии глаукомы. Острота зрения находилась в пределах 0,5 – 1,0 единиц. При офтальмоскопии у всех больных была выявлена глаукомная экскавация зрительного нерва, равнявшаяся в среднем 0,6 – 0,7.

Во вторую группу были включены 44 пациента (44 глаза) с далеко зашедшей ПОУГ (59,5 %) с умеренно высоким ВГД. Истинное внутриглазное давление на фоне лечения находилось в пределах 26 – 28 мм рт. ст. Изменение полей зрения соответствовало далеко зашедшей стадии глаукомы. Острота зрения до операции находилась в пределах 0,5 – 0,9 единиц. После проведения офтальмоскопии у всех больных была выявлена глаукомная экскавация зрительного нерва, равнявшаяся в среднем 0,8 – 0,9.

Всем пациентам проводили ГМЛЦК. Контролем служили не оперированные глаза с нормализованным офтальмотонусом.

Техника проведения ГМЛЦК: Операция проводится в глазной операционной. Положение больного лёжа на спине. Больному производится парабульбарная анестезия и акинезия 2 % раствором лидокаина гидрохлорида, устанавливается блефаростат, затем с помощью контактного лазерного зонда с умеренным вдавлением склеры в зоне проекции отростков цилиарного тела в 3 – 5 мм от хирургического лимба концентрично с 2 до 10 часов по ходу часовой стрелки наносят 22 – 25 лазерных коагулятов. Режим работы лазера: мощность от 1,0 до 1,2 Вт, экспозиция 3 с. [Кац Д.В.]. В послеоперационном периоде, начиная со дня операции, больным назначают инстилляцию 0,1 % раствора диклофенака натрия 3 раза в день сроком на две недели. Гипотензивную терапию постепенно отменяют.

Все больные проходили офтальмологическое обследование до вмешательства, через 3 дня, 14 дней, а также через 1 и 2 месяца после лазерного воздействия.

Определение остроты зрения осуществлялось по таблице Головина - Сивцева с коррекцией аметропии. Измерение офтальмотонуса с помощью бесконтактного пневмотонометра "NIDEK NT - 1000", тонометра Маклакова и Гольдмана. Определение поля зрения производилось на компьютерном автоматическом сферопериметре "Периком" с использованием программы обследования "Глаукома". Исследование переднего отрезка глаза - с помощью щелевой лампы "NIDEK". Офтальмоскопия - с помощью прямого электрического офтальмоскопа "Welch Allyn".

Кристаллографический метод исследования слезы. Рядом исследователей был использован кристаллографический метод, как вспомогательный для диагностики глаукомного процесса. В соответствии с этими данными мы решили воспользоваться вышеописанным методом в нашей работе в качестве индикатора динамики метаболических изменений состояния глаза при глаукомной оптической нейропатии в процессе лечения. Взятие слезы осуществляют в одно и то же время суток у всех пациентов. За 6 часов до процедуры инстилляции в конъюнктивальную полость не производят. Пациент находится в процедурном кабинете в положении сидя. Забор слезной жидкости производится в 1 - 2 этапа. Слезу забирают из нижнего конъюнктивального свода, путем проведения канюли по конъюнктиве нижнего свода, не вызывая раздражения слизистой. Слезу наносят на предметное стекло и высушивают при комнатной температуре в течение 4-х часов. Кристаллизат слезы изучают при помощи светового микроскопа фирмы «Leica» модель DMI 3000 B.

### **Результаты экспериментальных исследований**

После проведения серии биохимических исследований были получены результаты активности НДФК, динамика содержания АТФ и ГТФ в глазном яблоке (в сетчатке и зрительном нерве) при ГМЛЦК, ТМЛЦК и в контрольной группе.

Анализ полученных данных показал, что после проведения ГМЛЦК активность НДФК стабильна в первые 3 часа (13,27; 13,31 м.е. активности).

Далее с шестого часа от момента воздействия наблюдается тенденция к увеличению активности НДФК, которая достигает максимума (22,42 м.е. активности) к 24 часам и остается высокой до 36 часов от момента лазерного воздействия. Затем прослеживается небольшая тенденция спада активности НДФК до 21,42 м.е. активности. Скорость нарастания активности НДФК составляет 0,38 м.е./час за первые 24 часа. В контрольной группе активность НДФК стабильна в пределах 13,31 – 13,41 м.е. активности.

Повышение содержания АТФ отмечается сразу после воздействия, но видно интенсивное нарастание содержания АТФ в течение первых 18 часов от лазерного вмешательства с 0,66 нмоль до 2,71 нмоль. С 24 часа эксперимента содержание АТФ стабильно. Скорость нарастания количества АТФ составляет 0,08 м.е./час за первые 24 часа.

Количество ГТФ постепенно нарастает с первого часа и до 12 часов (0,21 – 0,57 нмоль), далее виден более резкий подъем количества вещества ГТФ до 0,89 нмоль в течение вторых суток с последующим небольшим спадом. Скорость нарастания количества ГТФ составляет 0,03 м.е./час за первые 24 часа.

В контрольной группе практически отсутствует динамика содержания АТФ (0,68 – 0,83 нмоль) и ГТФ (0,19 – 0,27 нмоль).

При ТМЛЩК активность НДФК стабильна в пределах 13,32 – 13,39 м.е. активности в первый час, 3 и 6 часов после воздействия излучения полупроводникового диодного лазера, далее прослеживается динамика роста активности НДФК с шестого часа после воздействия. Активность НДФК нарастает в течение последующих девяти часов и достигает максимума (19,41 м.е. активности) к 18 часам от момента воздействия лазерного излучения. В течение полутора суток активность НДФК остаётся максимально высокой. Далее к началу вторых суток исследования активность НДФК постепенно уменьшается до 18,85 м.е. активности. Скорость нарастания активности НДФК составляет 0,32 м.е./час за первые 18 часов. В контрольной группе активность НДФК стабильна в пределах 13,31 – 13,41 м.е. активности.

Содержания АТФ повышается сразу с третьего часа после лазерной процедуры с 0,83 нмоль до 1,48 нмоль и плавно продолжает расти в течение двух суток до отметки 2,11 нмоль, далее наблюдается процесс стабилизации содержания АТФ в образце. Скорость нарастания количества АТФ составляет 0,06 м.е./час за первые 24 часа.

Наблюдается активное повышение количественного содержания ГТФ с третьего часа после воздействия с 0,24 до 0,44 нмоль, затем плавный рост содержания ГТФ до 36 часа от воздействия до 0,67 нмоль и стабилизация процесса. Скорость нарастания количества ГТФ составляет 0,01 м.е./час за первые 36 часов.

В контрольной группе динамика содержания АТФ (0,68 – 0,83 нмоль) и ГТФ (0,19 – 0,27 нмоль) стабильна.

#### Результаты клинических исследований

В I группе пациентов после проведения оперативного вмешательства преимущественное повышение чувствительности сетчатки произошло в 33,3 % случаев. Уменьшение числа скотом произошло в 40 % случаев. Резистентными к воздействию оказались 26,7 % от общего числа обследованных больных данной группы. Острота зрения повысилась в среднем на 0,2 в 76,7 % случаев.

Во II группе после проведения оперативного вмешательства преимущественное повышение чувствительности сетчатки произошло в 34,1 % случаев. Уменьшение числа скотом произошло в 27,3 % случаев. Резистентными к проведенному лечению остались 38,6 % от общего числа обследованных больных данной группы. Острота зрения повысилась в среднем на 0,1 в 56,8 % случаев.

В процессе наблюдения в обеих группах не было отмечено ухудшения зрительных функций, связанных с лазерным воздействием.

### Данные кристаллографии

Объективными критериями эффективности воздействия зон управляемого воспаления на метаболизм сетчатки и зрительного нерва являлось изменение кристаллографической картины слезы: уменьшение промежуточной зоны, удлинение лучей кристаллов.

При первичном обследовании I группы пациентов (30 глаз) с развитой стадией глаукомы мы наблюдали четкое разделение на 3 зоны: краевую (белковую), центральную (солевою) и промежуточную, которая в норме не встречается. Краевая зона примерно в два раза шире промежуточной. Кристаллы центральной зоны расположены несколько хаотично. Появление промежуточной зоны свидетельствует о нарушении белково-солевой дифференциации, что связано с изменениями метаболизма в глазу.

В процессе исследования было отмечено, что после применения метода аутобиотерапии отмечается тенденция к нормализации кристаллографической картины слезы.

Так через 1 месяц после проведения ГМЛЦК в 43,4 % случаев остаётся разделение на 3 зоны: краевую, промежуточную и белковую, однако промежуточная зона уменьшается по ширине. В 33,3 % четкое разделение на 3 зоны: краевую (белковую), центральную (солевою) и промежуточную, лучи кристаллов удлиняются. Резистентными к воздействию оказались 23,3 % случаев.

Через 2 месяца после проведения ГМЛЦК кристаллографическая картина слезной жидкости стабильна: в 46,7 % случаев остаётся разделение на 3 зоны: краевую, промежуточную и белковую. Промежуточная зона стабильна по ширине (уже, чем до проведения МЛЦК). В 36,7 % также остаётся четкое разделение на 3 зоны: краевую (белковую), центральную (солевою) и промежуточную, но происходит удлинение лучей кристаллов. Резистентными к воздействию оказались 16,6 % пациентов.

При первичном обследовании II группы пациентов (44 глаза) с далеко зашедшей стадией глаукомы краевая белковая зона отсутствует у 59,1 %

пациентов. У 40,9 % пациентов видны следы белковой зоны. Кристаллы центральной зоны расположены хаотично, лучи кристаллов короткие.

В процессе исследования было отмечено, что после МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии отмечается тенденция к нормализации кристаллографической картины слезы.

Через 1 месяц после проведения ГМЛЦК в 38,6 % появляются следы белковой зоны, кристаллический хаос уменьшается, лучи кристаллов короткие. У 25 % пациентов белковая зона становится видна более отчетливо и лучи кристаллов удлиняются. Резистентными к воздействию оказались 36,4 % пациентов.

Через 2 месяца после проведения ГМЛЦК кристаллографическая картина слезной жидкости остаётся стабильна: в 41 % видны следы белковой зоны, лучи кристаллов удлиняются. В 29,5 % отчетливо видна белковая зона и длина лучей кристаллов стабильна. Резистентными к воздействию оказались 29,5 % пациентов.

Ни в одном случае не было отмечено ухудшения кристаллографической картины, связанной с лазерным воздействием.

## **ВЫВОДЫ:**

1. Впервые на материале 72 глаз кроликов породы серая шиншилла проведены исследования методом тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии для выявления в сетчатке и зрительном нерве активности фермента НДФК и количественного содержания АТФ и ГТФ соответственно и доказана эффективность воздействия МЛЦК на повышение уровня метаболитов в сетчатке и зрительном нерве.

2. Впервые с помощью выше перечисленных методов изучали влияние гипотензивной и трофической МЛЦК на активность НДФК, содержание АТФ и ГТФ в сетчатке и зрительном нерве. Активности фермента НДФК после ГМЛЦК увеличилась в 1,7 раза, после ТМЛЦК в 1,5 раза. Содержание АТФ при ГМЛЦК повысилось в 3,3 раза, при ТМЛЦК – в 1,7 раза.



Содержание ГТФ при ГМЛЦК повысилось в 4,2 раза, при ТМЛЦК – в 2,8 раза ( $p \leq 0,05$ ).

3. Впервые на основании полученных экспериментальных данных проведены клинические исследования методом ГМЛЦК на 30 глазах пациентов с развитой стадией ПОУГ и на 44 глазах пациентов с далеко зашедшей стадией ПОУГ. Клинически подтверждено положительное влияние на уровень ВГД и зрительные функции МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии. У пациентов с развитой стадией ПОУГ снижение ВГД достигнуто в 76,7 % случаев, положительная динамика в состоянии поля зрения - в 73,3 % случаев, повышение остроты зрения - у 76,7 % случаев. У пациентов с далеко зашедшей стадией ПОУГ снижение ВГД наблюдается в 68,2 % случаев, положительная динамика в состоянии поля зрения - в 61,3 % случаев, повышение остроты зрения - в 56,8% случаев.

4. Подтверждено значение метода кристаллографии слезы в качестве вспомогательного инструмента, отражающего динамику лечения при воздействии излучения диодного полупроводникового лазера на цилиарное тело пациентов с глаукомной оптической нейропатией. И представлены нормотипы кристаллизатов слезы, отражающие функциональное состояние глаза. При использовании метода аутобиотерапии происходит постепенная положительная динамика в изменении кристаллографической картины слезы. При развитой стадии ПОУГ положительные изменения наблюдаются в 76,7 % случаев к первому месяцу наблюдений и в 83,4 % случаев ко второму месяцу. При далеко зашедшей стадии глаукомы положительная динамика наблюдается в 63,6 % случаев к первому месяцу наблюдений и в 70,5 % случаев ко второму месяцу.

5. На основании полученных клинических данных (30 пациентов с развитой стадией ПОУГ, 44 пациента с далеко зашедшей стадией ПОУГ) определены показания и противопоказания к МЛЦК, разработан алгоритм и клинические рекомендации по применению метода кристаллографии для контроля качества лечения больных с глаукомной оптической нейропатией при

использовании в лечении МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии. Данная методика позволяет наглядно оценить и изучить стимуляцию и активизацию обменных процессов организма.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании результатов исследований были сформулированы практические рекомендации по применению методики аутобиотерапии, использующей локальное управляемое воспаление для лечения ГОН.

Воздействие в области плоской части цилиарного тела наряду с гипотензивным эффектом, обеспечивает постепенную положительную динамику в развитии изменений поля зрения и остроты зрения, причём эффективность используемого для этой цели излучения полупроводникового лазера не зависит от прозрачности хрусталика и состояния роговой оболочки.

Данная методика создания зон локального воспаления в области плоской части цилиарного тела приводит к развитию максимального метаболического эффекта через 3-4 недели после лазерного воздействия.

Поэтому универсальным способом создания зон контролируемого и ограниченного воспаления у пациентов является ГМЛЦК. Биологически активные вещества, продуцируемые в области воспалительного очага, через стекловидное тело с током жидкости достигают сетчатки и зрительного нерва, где оказывают благотворное действие на обменные процессы. Для выполнения этой операции с помощью контактного лазерного зонда с умеренным вдавлением склеры от 3 до 5 мм от хирургического лимба концентрично с 2 до 10 часов по часовой стрелке наносятся 22 – 25 лазерных коагулятов. При отсутствии достаточного гипотензивного эффекта возможно повторении ГМЛЦК, но не ранее чем через 1 месяц. Не рекомендуется повторять ГМЛЦК более 3-х раз.

Менее выраженный трофический эффект ТМЛЦК объясняется тем, что зона коагулятов ограничена небольшим участком, по сравнению с ГМЛЦК. Для оптимизации внутриглазного распределения биологически активных веществ в

сторону задних отделов глазного яблока возможно смещение зоны лазерного воздействия дальше от хирургического лимба до 5 – 7 мм. Для продолжения стимуляции энергетических процессов и поддержания зрительных функций возможно повторения процедуры ТМЛЦК 1 раз в год.

Объективным методом, показывающим положительную динамику в состоянии обменных процессов глаза, является кристаллография слезы, с помощью которой можно судить о влиянии ГМЛЦК у конкретного пациента, что даёт возможность объективной оценки в не зависимости от его субъективных ощущений.

В ряду выявленных положительных сдвигов метаболических показателей у пациентов с ПОУГ в развитой стадии, по сравнению с пациентами с ПОУГ в далеко зашедшей стадии, применение МЛЦК, как одного из методов аутобиотерапии оправдано на ранних стадиях глаукомного процесса.

Таким образом, применение методики, использующей управляемое и ограниченное воспаление в сочетании с кристаллографией, даёт возможность повысить эффективность лечения больных с глаукомной оптической нейропатией, наглядно изучить и показать её эффективность.

## **СПИСОК РАБОТ И ПАТЕНТОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В.. Механизмы действия модифицированной ЛЦК (обзор литературы)// VII Всероссийская школа офтальмолога: Сборник научных трудов.– М., 2008. – С. 66-72.

2. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В.. Экспериментальное обоснование трофического механизма действия модифицированной лазерциклооагуляции с позиции активности фермента нуклеозиддифосфат киназы// Клиническая офтальмология. – 2009. – Т 10. №1. – С. 10-12.

3. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Экспериментальное исследование активности фермента нуклеозиддифосфаткиназы с целью обоснования механизма трофического действия модифицированной лазерной циклооагуляции// VIII Всероссийская школа офтальмолога: Сборник научных трудов. – М., 2009. – С. 71-76.

4. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Активность фермента нуклеозиддифосфаткиназы в трофическом механизме действия

модифицированной лазерциклокоагуляции.// **Офтальмология.** – 2009. – Т 9. – С. 20-24.

5. Егоров А.Е., Милова Л.И., Милова С.В., Андрианова Е.В. Современные направления гипотензивного лечения глаукомы// Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы здравоохранения». – Пушкино, 2009. – С. 80-83.

6. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Исследование метаболических процессов происходящих в глазу при модифицированной лазерной циклокоагуляции.// Актуальные проблемы офтальмологии: Тез. докл. конф. молодых ученых. – М., 2009. – С. 22-23.

7. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Обоснование механизма трофического действия модифицированной лазерной циклокоагуляции с позиции количественного содержания молекулярного аденозинтрифосфата и гуанозинтрифосфата.// Научно-практич. конференция «Лазеры в офтальмологии: вчера, сегодня, завтра» (Сб науч. статей). – М., 2009. – С. 214-218.

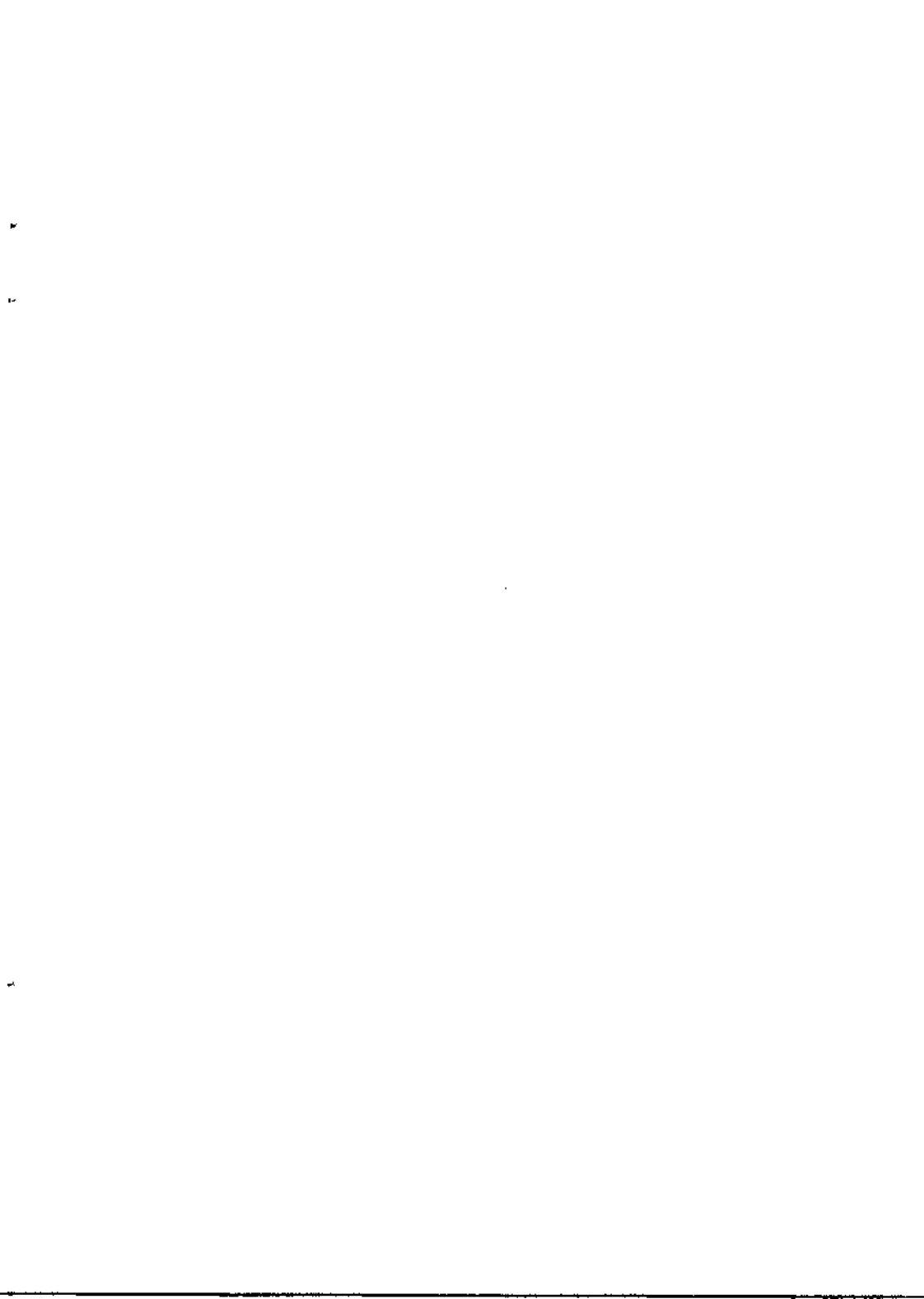
8. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Обоснование механизма трофического действия модифицированной лазерной циклокоагуляции.// **Вестник офтальмологии.** – 2009. – Т. 126. – №1. – С. 20-23.

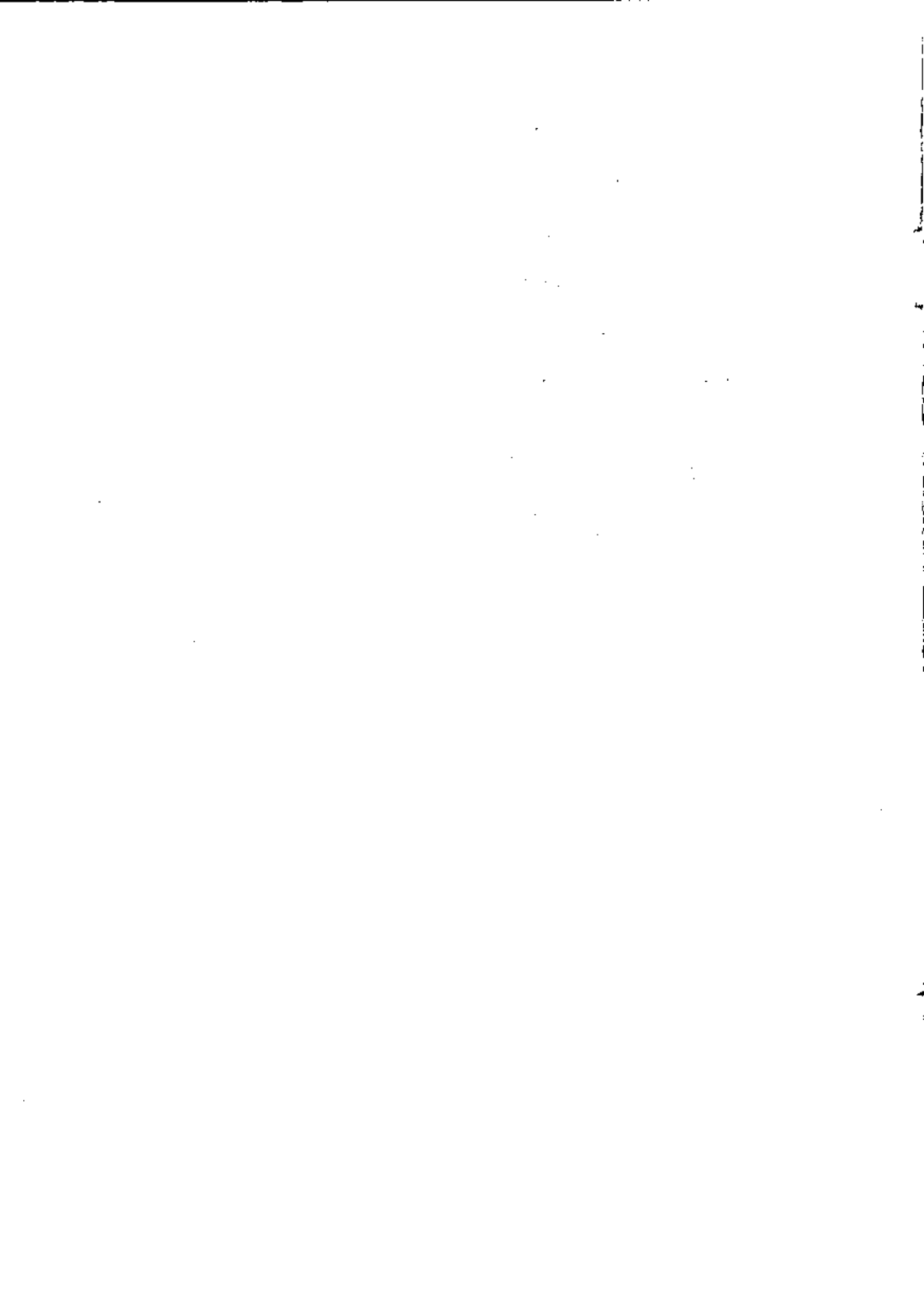
9. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Исследование количественного содержания молекулярного аденозинтрифосфата и гуанозинтрифосфата с целью обоснование механизма действия трофической модифицированной лазерной циклокоагуляции.// **Вестник ГОУ ВПО РГМУ «РОСЗДРАВА».** – 2010. – № 3. – С. 66-69.

10. Нестеров А.П., Егоров Е.А., Егоров А.Е., Кац Д.В., Шрамко Ю.Г., Товстенко Н.Н., Андрианова Е.В. Аутобиотерапия в лечении ишемических и гипоксических заболеваний сетчатки и зрительного нерва. // IX Всероссийская школа офтальмолога: Сборник научных трудов. – М., 2010. – С. 6-23.

11. Егоров А.Е., Андрианова Е.В., Кац Д.В. Исследование в эксперименте ферментативной активности после проведения модифицированной лазерциклокоагуляции.// IX Всероссийский съезд офтальмологов России: Тез. докл. – М., 2010. – С.145.

12. Подана заявка № 2010124285 на изобретение: Способ лечения больных с глаукомной оптической нейропатией. Егоров А.Е., Кац Д.В., Андрианова Е.В.





## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<b>АТФ</b>	аденозинтрифосфат
<b>ГТФ</b>	гуанозинтрифосфат
<b>НДФК</b>	нуклеозиддифосфаткиназа
<b>ПОУГ</b>	первичная открытоугольная глаукома
<b>МЛЦК</b>	модифицированная лазерная циклокоагуляция
<b>м.е. активности</b>	микроединицы активности
<b>ГМЛЦК</b>	гипотензивная модифицированная лазерная циклокоагуляция
<b>ТМЛЦК</b>	трофическая модифицированная лазерная циклокоагуляция

2011A

6955

7-2000

Подписано в печать: 02.03.10  
Объем: 1,5 усл.л.  
Тираж: 100 экз. Заказ № 312  
Отпечатано в типографии «Реглет»  
119526, г. Москва, пр-т Вернадского, 39  
(495) 363-78-90; [www.reglet.ru](http://www.reglet.ru)