

На правах рукописи

Мельникова Лиана Игоревна

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИДКИХ СРЕД ГЛАЗА ПРИ РАЗЛИЧНОМ
УРОВНЕ ОФТАЛЬМОТОНУСА.**

14.01.07 – глазные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном научном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней».

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Ермолаев Алексей Павлович

Официальные оппоненты:

Анисимов Сергей Игоревич, доктор медицинских наук, ООО Глазной центр «Восток-Прозрение», научный директор.

Страхов Владимир Витальевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой офтальмологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки РФ.

Защита диссертации состоится «19» марта 2018г. В 14-00 на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней» по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д.11, корп. А, Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.niigb.ru Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней»

Автореферат диссертации разослан « » _____ 2018г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Иванов М.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень её разработанности.

До настоящего времени не существует окончательного ответа на вопрос о механизме аномальной гиперсекреции внутриглазной жидкости (ВГЖ) и повышения уровня внутриглазного давления (ВГД) при глаукоме. В соответствии с существующей концепцией [Bill A. 1975, Brubaker R.F. 1991, Нестеров А.П. 1995, 2008, То С.Н. 2002], продукция ВГЖ является результатом комбинации диффузии, ультрафильтрации и активной секреции. Диффузия представляет собой пассивное движение растворенных веществ сквозь стенки отростков цилиарного тела в результате разности градиента концентрации данных веществ. Пассивная ультрафильтрация, в соответствии с законами гидродинамики, происходит в результате разницы между гидростатическим давлением, создаваемым кровью в капиллярах цилиарных отростков, и гидростатическим давлением жидкости в задней камере глаза. Нужно учесть, что данные механизмы могут обеспечить продукцию только базового количества ВГЖ, поскольку в тот момент, когда ВГД достигает давления, соответствующего давлению в капиллярах цилиарного тела (8–12 мм рт. ст.), этот механизм перестает работать [Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. 1974].

Дальнейшая продукция ВГЖ происходит за счет активной секреции, которая, по своей сути, является энергозатратным процессом и осуществляется уже против градиента гидростатического давления. При этом под влиянием фермента аденозинтрифосфатазы (АТФаза) в начале происходит трансмембранное перемещение осмотически активных веществ, которые в свою очередь приводят в действие механизм трансмембранного переноса жидкости [Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. 1974, Grantham J.J. 1976, Краснов М.М. 1980, Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д. 2001, Зайко Н.Н., Быця Ю.В. 2006, Литвицкий П.Ф. 2008]. Чем больше ВГД превышает гидростатическое давление в капиллярах цилиарного тела, тем большая работа необходима для переноса жидкости из капиллярного русла в

заднюю камеру глаза и тем более энергозатратным является процесс секреции ВГЖ [Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. 1974, Cole D.F. 1966, 1977].

Между тем при изучении интенсивности глазного кровотока методами ультразвуковой доплерографии и флоуметрии [Rojanarongrun P., Drance M. et al. 1993, Аветисов С.Э., Мамиконян В.Р. и др. 2009, Козлова И.В., Шмырева В.Ф. и др. 2008, 2010] было выявлено, что по мере повышения ВГД происходит нарастающее угнетение интрабульбарного кровотока, очевидно за счет усиления компрессии интрабульбарных сосудов со стороны внутриглазных жидких сред. Угнетение кровотока существенно ухудшает доставку энергетических субстратов, необходимых для работы АТФазы в процессе активной секреции ВГЖ. Помимо этого, необходимо учитывать существование онкотического давления, создаваемого белками крови, которое препятствует перемещению жидкости из капилляров внутрь глазного яблока и является антагонистом секреции ВГЖ [Ткаченко Б.И. 2005].

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что при значительном повышении уровня ВГД активная секреция ВГЖ должна уменьшаться. Тем не менее известно, что при глаукоме ВГД может повышаться до цифр, значительно превышающих величину давления в капиллярах цилиарного тела. При попытке объяснить гиперсекрецию ВГЖ на фоне уже высокого ВГД при помощи только ультрафильтрации и нормальной активной секреции возникает ряд серьезных вопросов, не имеющих в настоящее время однозначных ответов.

В литературе приводятся данные о связи между механизмом повышения ВГД при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) и химическим составом жидких сред глаза. Эти данные представляют интерес по следующим причинам: с одной стороны, влага передней камеры (ВПК) глаза является дериватом сыворотки крови (СК), поэтому концентрации веществ в СК и ВПК, за некоторыми исключениями, должны находиться в корреляционных соотношениях. С другой стороны, вещества, обладающие

осмотической активностью, тем или иным образом оказавшиеся внутри глазного яблока, принимают участие в процессе секреции ВГЖ. Активность этого процесса зависит от соотношения концентраций осмотически активных веществ по разные стороны стенок цилиарных отростков, в СК и ВПК [Fisher F. P. 1931, Evans J. 1939, Рачевский Р.А. 1939, Петросян Р.В. 1949, Ковалев Д.С. 1956, 1957].

В одном из проведенных ранее исследований витреального содержимого (Ермолаев А.П. 2008–2011) у пациентов с рефрактерной глаукомой в терминальной стадии заболевания, осложненной гипертензивным болевым синдромом, в витреальном содержимом была выявлена высокая концентрация мочевины, превышающая таковую в СК, что является аномальным явлением. Учитывая, что мочевина обладает высокой осмотической активностью, можно предположить, что ее повышенная концентрация в витреальной полости формирует условия для аномальной гиперсекреции: избыточного проникновения ВГЖ и удерживания ее в глазном яблоке. Это может оказаться одним из основополагающих факторов в механизме гиперсекреции и стойкого повышения уровня ВГД при некоторых формах глаукомы [Ермолаев А.П., Рендель Э.И., Кащеева Н.Н. 2008-2011, 2013].

Поскольку в основе активной секреции ВГЖ лежат процессы, связанные с осмотическими механизмами [Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. 1974], мы предположили, что сравнительное изучение концентраций химических элементов между СК и ВПК и между СК и витреальным содержимым глаза позволит расширить понимание этого вопроса.

Изучение химического состава жидких сред глаза человека *in vivo* затрудняют методические проблемы, связанные с малым количеством жидкости, которое допустимо отбирать для исследования из передней камеры глаза человека в процессе операции. Новые перспективы в решении этого вопроса открывает применение энергодисперсионного спектрометра

(ЭДС), интегрированного в сканирующий электронный микроскоп (СЭМ), который позволяет измерять концентрации химических элементов в сухом веществе анализируемых образцов биологических жидкостей с малым исходным объемом.

Цель – изучить влияние концентраций химических элементов между жидкими средами глаза и сывороткой крови на гидродинамику глаза при нормальном и повышенном уровне внутриглазного давления.

Задачи

1. Отработать метод определения концентрации химических элементов в жидких средах глаза при помощи энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий электронный микроскоп. При помощи данного метода изучить концентрации химических элементов в жидких средах глаза и сыворотке крови (СК) и провести их сравнительный анализ.
2. Изучить концентрацию химических элементов во влаге передней камеры глаз (ВПК) и в СК у пациентов с нормальным уровнем ВГД. Выявить нормальные соотношения концентраций химических элементов между ВПК и СК при нормальном ВГД.
3. Изучить концентрацию химических элементов в ВПК и СК у пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД на максимальном гипотензивном режиме. Изучить соотношение концентраций химических элементов между ВПК и СК при декомпенсированном ВГД.
4. Определить значения концентраций химических элементов в содержимом витреальной полости кадаверных глаз.
5. Изучить концентрацию химических элементов в содержимом витреальной полости и СК у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД. Изучить влияние соотношения концентраций этих элементов между содержимым витреальной полости и СК на секрецию ВГЖ и уровень ВГД.
6. Изучить возможное влияние разницы концентраций химических элементов на механизм нормальной и патологической секреции ВГЖ.

Научная новизна

1. Отработан метод исследования жидких сред глаза человека с помощью энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий электронный микроскоп.
2. Для данного метода исследования определена норма концентраций химических элементов в ВПК глаз с нормальным уровнем ВГД. Рассчитано нормальное соотношение между концентрациями химических элементов в ВПК и СК в глазах с нормальным ВГД и оценена его роль в нормальной секреции ВГЖ.
3. Выявлено и оценено соотношение между концентрациями химических элементов в ВПК и СК у пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД.
4. Определена и оценена разность концентраций химических элементов в ВПК глаз пациентов с нормальным уровнем ВГД и с ПОУГ с декомпенсированным ВГД.
5. Определена и оценена разность концентраций химических элементов в содержимом витреальной полости кадаверных глаз и в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД.
6. Выявлено соотношение концентраций химических элементов между содержимым витреальной полости и СК у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД.
7. Выявлено с высокой достоверностью, что концентрации натрия и калия в ВПК как при нормальном уровне ВГД, так и при ПОУГ с декомпенсированным ВГД почти эквивалентны друг другу. На основании полученных данных было выдвинуто предположение, что натрий и калий, входящие в состав основных электролитов биологических жидкостей, участвуют в процессе нормальной активной секреции ВГЖ и не участвуют в механизме патологической гиперсекреции ВГЖ и в повышении ВГД.
8. Выявлена повышенная концентрация азота в ВПК при ПОУГ с декомпенсированным ВГД по сравнению с аналогичным показателем при нормальном уровне ВГД. На основе этого выдвинуто предположение, что в

механизме патологического повышения уровня ВГД участвуют азотсодержащие вещества, обладающие высокой осмотической активностью.

9. Выявлена повышенная концентрация серы в ВПК в группе с ПОУГ с декомпенсированным ВГД. Предположительно, это может быть связано с применением пациентами гипотензивных капель, в состав которых входит сера.

10. Выявлена повышенная концентрация калия в содержимом витреальной полости по сравнению с аналогичным показателем в СК у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД. Учитывая, что химический элемент калий входит в состав основных электролитов, способных влиять на процессы гидратации и задействованных в активной секреции жидкости, полученные данные могут указывать на преобладание в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой катаболических процессов с разрушением клеточных мембран и избыточным выходом в межклеточное пространство внутриклеточного калия.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. С помощью энергодисперсионного спектрометра (ЭДС), интегрированного в сканирующий электронный микроскоп (СЭМ), отработан метод исследования жидких сред глазного яблока человека.

2. Для ЭДС, интегрированного в СЭМ, определена нормальная концентрация химических элементов в ВПК глаз с нормальным уровнем ВГД. Выявлено нормальное соотношение концентраций химических элементов между ВПК и СК и определено его влияние на нормальную и патологическую секрецию ВГЖ.

3. Изучено влияние повышенной концентрации азотсодержащих веществ в жидких средах глаза на повышение уровня ВГД, что позволило расширить знания о гидродинамических механизмах и природе патологического повышения ВГД.

Методология и методы диссертационного исследования

Методологический основой диссертационной работы явилось применение комплекса методов научного познания. Диссертация выполнена в соответствии с принципами научного исследования в дизайне одномоментного открытого сравнительного исследования с использованием клинических, инструментальных, аналитических и статистических методов.

Положения, выносимые на защиту

1. Метод исследования с помощью энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий электронный микроскоп, может быть использован для изучения элементного химического состава жидких сред глазного яблока человека.
2. На основании анализа разницы концентраций натрия и калия между ВПК и СК выдвинуто предположение, что эти элементы участвуют в процессе нормальной секреции ВГЖ и не участвуют в патологической гиперсекреции.
3. На основании выявленной разницы в концентрации азота в ВПК между группами глаз с нормальным уровнем ВГД и с ПОУГ с декомпенсированным ВГД выдвинуто предположение, что азотсодержащие осмотически активные вещества могут принимать участие в патологической гиперсекреции ВГЖ и в механизме повышения ВГД.
4. Повышенная концентрация серы в ВПК при ПОУГ с декомпенсированным ВГД, предположительно может быть связана с применением гипотензивных капель, содержащих серу.
5. Повышенная концентрация калия и фосфора в содержимом витреальной полости кадаверных глаз по сравнению с глазами с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД *in vivo* может быть связана с постмортальными изменениями и должна учитываться при построении гидродинамической модели глазного яблока.
6. Выявленная повышенная концентрация калия в содержимом витреальной полости по сравнению с аналогичным показателем в СК у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с

декомпенсированным ВГД может указывать на преобладание в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой катаболических процессов с разрушением клеточных мембран и избыточным выходом в межклеточное пространство внутриклеточного калия.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов исследования определяется достаточным и репрезентативным объемом выборки. В работе использовано современное сертифицированное офтальмологическое оборудование. Анализ результатов работы выполнен с использованием современных методов сбора и обработки научных данных.

Основные положения диссертации доложены и представлены на конференциях: VIII РООФ, Молодые ученые (Москва 22–24.09.2015 г.), 113 конгресс Немецкого офтальмологического общества Deutsche ophthalmologische gesellschaft (Берлин 03.10.2015г.), «Биомеханика 2016» (Институт физиологии им. И.М. Павлова, С-Пб. Москва 26.01.2016), «Невские горизонты-2016» (Кафедра и клиника офтальмологии ГБОУ ВПО "Санкт-Петербургского Государственного Педиатрического Медицинского Университета" 22.04.2016г.), Научная конференция по глаукоме. Дискуссионный клуб "ПроЗрение" (Нижний Новгород 03.03.2017), Офтальмологическая конференция. Ерошевские чтения-2017 (Самара 23.06.2017г.).

Научная работа и доклад ее результатов заняли 3-е место в номинации «Современные технологии в офтальмологии» на VIII российском общенациональном офтальмологическом форуме (РООФ). Москва. 22–24.09.2015.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в планировании и проведении данного исследования, взятии и пробоподготовке биологического материала. Подготовке публикаций и

докладов по теме диссертационной работы. Вся обработка, анализ и интерпретация полученных результатов выполнены лично автором.

Внедрение результатов работы

Результаты работы внедрены в клиническую практику ФГБНУ «НИИ глазных болезней».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 3 – в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, определенных Высшей аттестационной комиссией.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация изложена на 137 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, а также описания собственных исследований, изложенных в 6 главах, заключения, выводов, списка литературы, который содержит 202 источника (93 отечественных и 109 зарубежных). Работа иллюстрирована 17 рисунками и 14 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Материал и методы исследования.

Исследование представляло собой два независимых фрагмента, каждый из которых состоял из 2 групп.

Первый фрагмент предполагал анализ состава ВПК и СК у пациентов группы с нормальным уровнем ВГД (группа 1А) и группы с ПОУГ с декомпенсированным ВГД (группа 1Б), а также проведение сравнительного исследования полученных концентраций химических элементов в ВПК и СК пациентов указанных групп.

Второй фрагмент включал анализ состава содержимого витреальной полости кадаверных глаз (группа 2А) и анализ состава содержимого витреальной полости и СК у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД с гипертензионным болевым синдромом, не купируемым медикаментозными средствами (группа

2Б). Также было проведено сравнительное исследование полученных концентраций химических элементов в содержимом витреальной полости пациентов данных групп.

Группа 1А состояла из 33 пациентов (33 глаз) с нормальным уровнем ВГД ($P_o \leq 20$ мм рт. ст.), принятых за «условную» норму. В данную группу вошли пациенты с незрелой катарактой, не использующие гипотензивные капли. Образцы ВПК были взяты в процессе операции факоэмульсификации катаракты.

Группа 1Б включала 33 пациента (33 глаза) с ПОУГ с декомпенсированным ВГД ($P_o \geq 21$ мм рт. ст.) на фоне применения максимальной гипотензивной терапии. Образцы ВПК были взяты в процессе проникающей антиглаукомной операции.

Группа 2А состояла из 15 кадаверных глаз, взятых у умерших по разным причинам людей и поступивших в глазной банк ФГБНУ «НИИ глазных болезней» и по разным причинам не допущенных к кератопластике. Содержимое витреальной полости из кадаверных глаз забирали не позднее 6–8 ч от момента наступления смерти.

Группа 2Б состояла из 15 пациентов (15 глаз) с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД и гипертензионным болевым синдромом, не купируемым медикаментозными средствами. В исследование были включены глаза с $Vis=0$. В группу вошли пациенты с вторичной поствоспалительной глаукомой (поле перенесенного кератита и увеита) и вторичной посттравматической глаукомой (вследствие контузии или ранения) глазного яблока. Образцы содержимого витреальной полости брали в процессе антиглаукомной органосохранной операции, основанной на дренировании витреального пространства.

Кровь для исследования забирали у пациентов из групп 1А, 1Б и 2Б через сухую иглу из кубитальной вены в начале операции, до введения наркотических препаратов. Пробирки с цельной кровью центрифугировали, надосадочную часть центрифугата рассматривали как СК и передавали на

исследование с остальными биологическими жидкостями с применением ЭДС, интегрированного в СЭМ.

Энергодисперсионный спектрометр (ЭДС) – это один из самых распространенных детекторов, дополнительно устанавливаемых на СЭМ. ЭДС дает возможность получения полуколичественного анализа и карт распределения химических элементов по площади исследуемого образца [Рид С.Дж.Б. 2008].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Примененный в работе метод анализа содержания химических элементов в исходных биологических жидкостях предполагает исключение хлора (Cl) из перечня химических элементов, для которых оценивались концентрации, так как его условная постоянная концентрация служила основой для вычисления содержания остальных химических элементов.

При сравнении полученных показателей химического элементного состав ВПК и СК у пациентов с **нормальным уровнем ВГД (группа 1А)** было выявлено, что концентрации таких химических элементов, как натрий (Na), калий (K), магний (Mg) и кальций (Ca) в ВПК достоверно выше, чем в СК, а концентрации химических элементов фосфора (P), азота (N) и серы (S) достоверно больше в СК, чем в ВПК. Только в показателях концентраций кремния (Si) отсутствует достоверная разница в его содержании в двух биологических жидкостях.

При сравнении полученных показателей химического элементного состав ВПК и СК у пациентов с **ПОУГ с декомпенсированным ВГД (группа 1Б)** было выявлено, что Na, K, Mg и Ca в ВПК достоверно выше, чем в СК, а P, N и S достоверно больше в СК, чем в ВПК. Показатели концентраций Si также значимо не различаются в двух биологических жидкостях.

В результате исследования было выявлено, что концентрация Na и K в ВПК была выше, чем в СК как в группе с нормальным уровнем ВГД (группа 1А), так и в группе с ПОУГ с декомпенсированным ВГД (группа 1Б). Мы

трактовали это как косвенное подтверждение того, что Na и K активно участвуют в процессе нормальной секреции ВГЖ.

Также было проведено сравнительное исследование полученных концентраций химических элементов между содержимым витреальной полости и СК у пациентов с **рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД (группа 2Б)**. Оно выявлено, что концентрация K достоверно выше в содержимом витреальной полости, чем в СК, а концентрация S достоверно выше в СК, чем в содержимом витреальной полости. Во всех остальных показателях концентраций химических элементов, таких как Na, Si, P, Mg, Ca и N отсутствует значимость различий в двух биологических жидкостях, мы предполагаем, что это может быть связано с недостаточным объемом выборки. Химический элемент K входит в состав основных электролитов, способных влиять на процессы гидратации и задействованных в активной секреции жидкости [Тринчер К.С 1966, Самойлов О.Я. 1967]. Это дает возможность предположить, что выявленная повышенная концентрация K в содержимом витреальной полости по сравнению с аналогичным показателем в СК указывает на преобладание в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии катаболических процессов с разрушением клеточных мембран и избыточным выходом в межклеточное пространство внутриклеточного K. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Сравнительная характеристика ВПК и СК у пациентов с нормальным уровнем ВГД и пациентов с ПОУГ с декомпенсированным ВГД.

Среди элементов, входящих в состав изучаемых биологических жидкостей, мы обратили внимание на концентрации Na, K и N, поскольку они присутствуют в химических соединениях с высокой осмотической активностью, которые могут оказывать влияние на процессы трансмембранного перемещения жидкости и уровень секреции ВГЖ [Тринчер К.С 1966, Самойлов О.Я. 1967].

Натрий (Na) является главным катионом внеклеточной жидкости организма, способным при перемещении сквозь биологическую мембрану увлекать за собой воду [Калюжный В.П. 2003].

Калий (K) в организме является преимущественно катионом внутриклеточной жидкости, в противоположность Na, поэтому внутри клетки его содержание выше, чем во внеклеточной жидкости. Истощение внутриклеточных ресурсов K приводит к внеклеточному алкалозу [Калюжный В.П. 2003]. Поддержание натрий-калиевого баланса по разные стороны биологических мембран является активным энергозатратным процессом, а разность концентраций этих элементов по разные стороны мембраны является неотъемлемым свойством живого организма.

Остаточный (небелковый) N входит в состав таких веществ как мочевины (на ее долю приходится 46–60% остаточного N), аминокислоты (до 25%), креатинин (5–7%), мочевая кислота (4%) и др. Мочевина (карбамид или диамид угольной кислоты) является конечным продуктом белкового катаболизма. Она способна свободно проходить через мембраны клеток, но с трудом проходит гематоэнцефалический и гематоофтальмический барьеры. Мочевина в течение долгого времени использовалась в клинической практике как сильный осмотический диуретик, способный эффективно снижать уровень внутриглазного и ликворного давления [Машковский М.Д. 1986]. Будучи осмотически активным веществом, оказавшись в избыточном количестве в пространстве, ограниченном полупроницаемой мембраной, мочевины активно участвует в трансмембранном перемещении молекул воды внутрь замкнутого пространства, что приводит к его гипергидратации [Камышникова В.С. 2013].

Механизм накопления осмотически активного вещества внутри глазного яблока, а вслед за этим избыточного накопления жидкости и повышения уровня ВГД до настоящего времени непонятен. Гипотетически могут быть представлены две модели данного процесса.

Первая из возможных моделей связана с кинетикой трансмембранной

миграции осмотически активного вещества при его диффузном проникновении внутрь замкнутого объема (внутри глазного яблока) с его последующим накоплением. В общих чертах, гипотетически, схема реализации этого механизма может быть представлена следующим образом: в процессе жизнедеятельности в организме возникают временные перепады концентраций продуктов метаболических процессов, которые периодически могут выходить за рамки физиологической нормы. В большинстве случаев существующие гомеостатические механизмы устраняют запредельное повышение осмотически активных метаболитов, но при наличии в организме обменных нарушений и метаболических сбоев такое повышение концентраций может быть длительным и значительным. Для иллюстрации данного процесса предположим, что у пациента возникает временное повышение в крови концентрации осмотически активного вещества X с длиной цикла изменения концентрации t . При этом скорость и количество диффузного проникновения этого вещества внутрь глазного яблока обеспечивает соизмеримое с длиной цикла время трансмембранного пассивного перемещения вещества X внутрь глазного яблока. В случае нормальной гидродинамики глаза эти вещества будут своевременно выводиться из глазного яблока вместе с оттекающей жидкостью по функционирующим путям оттока. В случае глаукомы, при нарушениях в дренажных структурах глаза и ухудшении оттока жидкости, выведение вещества X , оказавшегося внутри глазного яблока, будет нарушено. При том, что в кровеносной системе организма концентрация вещества X будет периодически приводиться в норму, внутри глаза на фоне возникшей повышенной концентрации осмотически активного вещества X будут возникать условия для избыточного аномального транспорта внутрь глазного яблока и удержания в нем воды. В конечном итоге это приведёт к накоплению избыточного количества воды в глазном яблоке и повышению уровня ВГД. Если предположить, что источник вещества X находится вне оболочек глаза, необходимо допустить, что внутрь глазного яблока это

вещество может попадать только в дегидратированном состоянии и только внутри глаза оно начинает проявлять свою осмотическую активность (присоединять воду). Однако как химически, так и энергетически существование такого механизма не выгодно и потому – маловероятно.

Вторая теоретически представленная модель может быть связана с патологическим повышением концентрации вещества X при условии его продукции непосредственно внутри глаза и при ограниченной скорости его выведения вовне. В этом случае будет сохраняться постоянное превышение его концентрации по сравнению с концентрацией в крови, что будет приводить к возникновению устойчивых предпосылок для гипергидратации и устойчивому повышению уровня ВГД с участием механизма осмоса. Необходимо отметить, что, несмотря на наличие косвенных признаков участия постоянного осмотического компонента в патогенезе стойкого повышения уровня ВГД, в настоящее время не обнаружено конкретного вещества, образующегося внутри глаза и имеющего высокие осмотические качества.

В проведенном исследовании было выявлено отсутствие достоверной разницы между концентрациями Na (1,472/1,424 ммоль/л) и K (0,106/0,114 ммоль/л) в ВПК независимо от уровня ВГД, что мы рассматривали как косвенный показатель того, что эти элементы не принимают активного участия в патологической гиперсекреции ВГЖ.

Вопрос о роли N в процессе секреции ВГЖ нам представляется более сложным. Независимо от уровня ВГД концентрация N в СК в норме всегда значительно выше, чем в ВПК, поскольку в крови в большом количестве содержатся разнообразные азотсодержащие органические и неорганические химические вещества (белки, креатинин, мочевины и т.д.). Необходимо учесть, что концентрация азотсодержащих соединений в СК является многофакторной характеристикой и зависит от множества причин [Сейранов С.Г. 1986]. Поэтому мы не стали придавать большого значения разнице концентраций N между ВПК и СК как в группе пациентов с нормальным

уровнем ВГД, так и в группе с ПОУГ с декомпенсированным ВГД, но предположили, что для патологической гиперсекреции влаги может иметь значение разницы концентраций N в ВПК между указанными группами.

Для уточнения данного вопроса было проведено сравнительное исследование концентраций N в образцах ВПК глаз, взятых при нормальном уровне ВГД и при ПОУГ с декомпенсированным ВГД. Разница составила 0,960/1,151 ммоль/л в пользу группы с ПОУГ. Выявлено, что различие концентраций N в ВПК между группами имеет низкую степень достоверности; возможно, это связано с недостаточным объемом выборки.

Полученные данные позволили предположить, что N входит в состав осмотически активных веществ, участвующих в патологической гиперсекреции ВГЖ и повышении уровня ВГД. Эти вещества скапливаются внутри глазного яблока на фоне изменений в дренажной системе глаза, ухудшения оттока и снижения трансбульбарной циркуляции жидкости, что в конечном итоге приводит к гипергидратации внутриглазного содержимого и повышению уровня ВГД. Предположительно, таким веществом может быть мочевины, избыточное количество которой ранее было обнаружено в витреальном содержимом у пациентов со стойким повышением уровня ВГД при рефрактерных глаукомах в терминальной стадии заболевания [Ермолаев А.П. 2008-2011, 2013]. Другим элементом, концентрация которого в ВПК была значительно больше в группе с ПОУГ при декомпенсированном ВГД по сравнению с группой с нормальным уровнем ВГД, была S ($p < 0,001$).

Однако одной из возможных причин повышения концентрации как N, так и S при ПОУГ с декомпенсированным ВГД может быть то, что эти элементы входят в состав значительного количества гипотензивных капель, которые пациенты с глаукомой активно применяли перед операцией [Петров С.Ю. 2014]. Данные результаты нуждаются в дальнейшем изучении.

Помимо этого, было выявлено статистически значимое повышение концентраций P и Mg в ВПК в группе с ПОУГ с декомпенсированным ВГД. Как известно, P и Mg участвует во многих биологических процессах,

протекающих в организме человека. [Марри Р. 1993, Морозкина Т.С. 2002, Калюжный В.П. 2003]. Учитывая это, для нас до конца не ясна роль Р и Mg в патологической гиперсекреции ВГЖ.

При сравнении полученных показателей химических элементов в СК между группами с нормальным уровнем ВГД и с ПОУГ с декомпенсированным ВГД, были выявлены статистически значимые различия в концентрациях Si, Mg и Ca. Концентрация этих элементов была выше в группе пациентов с декомпенсированным ВГД. Учитывая то, что концентрация химических элементов в СК зависит от многих показателей человеческого организма, мы затрудняемся в трактовки данных полученных результатов.

Сравнительная характеристика содержимого витреальной полости кадаверных глаз и глаз с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД.

Благодаря проведенным исследованиям была определена концентрация химических элементов в содержимом витреальной полости кадаверных глаз (группа 2А) и проведено сравнительное исследование концентраций полученных химических элементов между содержимым витреальной полости кадаверных глаз (группа 2А) и содержимым витреальной полости глаз с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД (группа 2Б). Выявлено, что расхождения по концентрации Na в обеих группах незначительны и недостоверны (1,434/1,371 ммоль/л). Концентрация K в содержимом витреальной полости кадаверных глаз достоверно выше, чем в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой *in vivo* (0,172/0,093 ммоль/л). Это согласуется с имеющимися данными о постмортальном увеличении концентрации K в витреальной полости [Марченко Н.П 1966, 1969, Blocks G.H. 1988, Madea B. 1986, 2016]. В живых тканях концентрация K внутри клеток существенно выше, чем в межклеточном пространстве, а в постмортальном периоде под воздействием аутолитических процессов происходит разрушение клеточных мембран и

высвобождение К в межклеточное пространство и соответственно в содержимое витреальной полости [Авцын А.П. 1979, Кузнецов С.Л. 2007]. В кадаверном содержимом витреальной полости отмечено достоверное повышение концентрации Р (0,045/0,025 ммоль/л). Как известно, Р участвует во многих биологических процессах, протекающих в организме человека [Марри Р. 1993, Морозкина Т.С. 2002]. Это подтверждает предположение, что Р также высвобождается в межклеточное пространство под воздействием постмортальных аутолитических процессов [Авцын А.П. 1979, Кузнецов С.Л. 2007]. Базируясь на вышесказанном и литературных данных, в постмортальном периоде в организме человека протекают необратимые аутолитические процессы. Выявленная повышенная концентрация химических элементов К и Р в кадаверном содержимом витреальной полости по сравнению с аналогичным показателем в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД ставит под сомнение возможность прямого сравнения содержимого витреальной полости кадаверных глаз и глаз человека *in vivo*. Полученные различия в показателях должны учитываться при построении гидродинамической модели глазного яблока.

Также было выявлено достаточно значимое, но статистически недостоверное, повышение концентраций N и S в содержимом витреальной полости глаз с рефрактерной вторичной глаукомой, по сравнению с кадаверными глазами, для N равно 2,030/1,424 ммоль/л, а для S – 0,066/0,048 ммоль/л. Возможно, статистическая недостоверность показателей связана с малой выборкой, поскольку, выявленные увеличения концентраций N и S косвенно перекликаются с полученными результатами при сравнении химического элементного состава ВПК глаз с нормальным ВГД (группа 1А) по отношению к ВПК глаз с ПОУГ с декомпенсированным ВГД (группа 1Б). При ПОУГ с декомпенсированным ВГД было выявлено статистически значимое повышение концентраций как N, так и S в ВПК, по сравнению с глазами с нормальным ВГД. При сравнении концентраций таких химических

элементов как Si, Mg, Ca были обнаружены небольшие и статистически не значимые различия между содержимым витреальной полости групп 2А и 2Б.

ВЫВОДЫ

1. Впервые с помощью энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий электронный микроскоп, отработан метод исследования жидких сред глаза человека. Для данного метода исследования была определена норма концентраций химических элементов во влаге передней камеры в глазах с нормальным уровнем ВГД. Определена и оценена разность концентраций химических элементов во влаге передней камеры глаз пациентов с нормальным уровнем ВГД и с ПОУГ с декомпенсированным ВГД. Установлена разность концентраций химических элементов в содержимом витреальной полости кадаверных глаз и глаз с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД.

2. Метод исследования жидких сред глаза с использованием энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий электронный микроскоп, позволил проводить анализ концентраций химических элементов в полученных образцах с исходным малым объемом – всего 0,25 мкл.

3. Концентрации химических элементов натрия и калия во влаге передней камеры глаз в группе пациентов с нормальным уровнем ВГД стабильно выше, чем в сыворотке крови тех же пациентов, что указывает на участие этих элементов в активной нормальной секреции внутриглазной жидкости. Показатели концентраций натрия и калия во влаге передней камеры как при нормальном уровне ВГД, так и при ПОУГ с декомпенсированным ВГД почти эквивалентны друг другу. Соотношение концентраций во влаге передней камеры при нормальном уровне ВГД и при ПОУГ с декомпенсированным ВГД для натрия равно 1,472/1,424 ммоль/л, а для калия – 0,106/0,114 ммоль/л. Это позволяет предположить, что натрий и калий не участвуют в патологической гиперсекреции внутриглазной жидкости.

4. Выявлена повышенная концентрация химического элемента азота во влаге передней камеры при ПОУГ с декомпенсированным ВГД по сравнению с концентрацией этого элемента во влаге передней камеры при нормальном уровне ВГД (1,151/0,960 ммоль/л). Это позволяет предположить, что в механизме патологической гиперсекреции внутриглазной жидкости и в повышении уровня ВГД могут принимать участие азотсодержащие осмотически активные вещества.

5. Выявлена повышенная концентрация серы во влаге передней камеры в группе с ПОУГ с декомпенсированным ВГД, что может быть связано с применением пациентами гипотензивных капель, содержащих серу.

6. Выявлена повышенная концентрация калия и фосфора в содержимом витреальной полости кадаверных глаз по сравнению с аналогичными показателями глаз с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД *in vivo*. Это может быть связано с постмортальными изменениями и должно учитываться при построении гидродинамической модели глазного яблока.

7. Выявлена повышенная концентрация калия в содержимом витреальной полости у пациентов с рефрактерной вторичной глаукомой в терминальной стадии с декомпенсированным ВГД по сравнению с содержанием этого элемента в сыворотке крови тех же пациентов. Учитывая, что химический элемент калий входит в состав основных электролитов, способных влиять на процессы гидратации и задействованных в активной секреции жидкости, полученные данные могут указывать на преобладание в глазах с рефрактерной вторичной глаукомой катаболических процессов с разрушением клеточных мембран и избыточным выходом в межклеточное пространство внутриклеточного калия. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На основании нового отработанного метода с помощью энергодисперсионного спектрометра, интегрированного в сканирующий

электронный микроскоп, возможно дальнейшее изучение химического элементного состава жидких сред глазного яблока человека при различной патологии.

2. В дальнейшем при изучении этиологии и патогенеза глаукомы и разработке патогенетических методов ее лечения необходимо принимать во внимание обнаруженные изменения в химическом элементном составе жидких сред глаза человека.

3. Полученные новые данные о химическом элементном составе жидких сред глаза человека должны быть учтены при дальнейшем изучении осмотических механизмов и построении гидродинамической модели глазного яблока.

Использованные сокращения:

АТФаза – фермент аденозинтрифосфатаза	Na – химический элемент натрий
ВГД – внутриглазное давление	K – химический элемент калий
ВГЖ – внутриглазная жидкость	Si – химический элемент кремний
ВПК – влага передней камеры	P – химический элемент фосфор
ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома	Mg – химический элемент магний
СК – сыворотка крови	Ca – химический элемент кальций
СЭМ – сканирующий электронный микроскоп	N – химический элемент азот
	S – химический элемент сера
ЭДС – энергодисперсионный спектрометр	Cl – химический элемент хлор

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Ермолаев А.П., Мельникова Л.И., Щеголева Т.А. Состояние стекловидного тела при глаукоме в терминальной стадии заболевания // X съезд офтальмологов России. Сборник научных материалов. – Москва. – 17-19 июня 2015 – С. 82.
2. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г. Сравнение химического состава влаги передней камеры и крови в норме и при первичной открытоугольной глаукоме // XIV Всероссийская школа офтальмолога 12-15 марта 2015 г. Сборник научных трудов под редакцией проф. Е.А. Егорова. – Москва. – 2015 – С. 87-88.
3. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г. Сравнение химического состава влаги передней камеры и сыворотки крови в норме и при первичной открытоугольной глаукоме // Точка зрения. Восток – Запад. – 2015 – № 1 – С. 90.

4. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г. Концентрация химических элементов во влаге передней камеры у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и с нормальной гидродинамикой // VIII РООФ. – Москва. – 2015 – С. 672-676.
5. Ермолаев А.П., Атькова Е.Л., Мельникова Л.И., Ярцев В.Д. Проведение антиглаукомной операции у пациента с облитерацией слезоотводящих путей // **РМЖ. Клиническая офтальмология.** – 2015 – Т.15 – №4 – С. 180-183.
6. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г. Сравнительная оценка концентраций химических элементов во влаге передней камеры у пациентов с декомпенсированной ПОУГ и с нормальной гидродинамикой // Национальное глаукомное общество №1(37). – Москва. – 2016 – С. 98-100.
7. Ермолаев А.П., Ильинская М.В., Мельникова Л.И. Роль возникновения задней отслойки стекловидного тела в патогенезе первичной закрытоугольной глаукомы // **Национальный журнал Глаукома.** – 2016 – Т.15 – № 2 – С. 3-10.
8. Аветисов С. Э., Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г. Концентрация химических элементов во влаге передней камеры глаза и в сыворотке крови у пациентов с нормальной гидродинамикой и с декомпенсированным ВГД // XV Всероссийская школа офтальмолога. 10-13 марта 2016 г. Сборник научных трудов под редакцией проф. Е.А. Егорова. – Москва. – 2016 – С. 7-12.
9. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г., Аветисов К.С. Элементный состав влаги передней камеры и сыворотки крови при различном уровне внутриглазного давления // **Вестник офтальмологии.** – 2016 – Т.132 – №6 – С. 43-48.
10. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Грибоедова И.Г., Аветисов К.С. Влияние разницы химического состава между влагой передней камеры глаза и сывороткой крови на секрецию внутриглазной жидкости // XVI Всероссийская школа офтальмолога. 16-19 марта 2017 г. Сборник научных трудов под редакцией проф. Е.А. Егорова. – Москва. – 2017 – С. 67-73.
11. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Аветисов К.С. Концентрация химических элементов во влаге передней камеры и сыворотке крови у пациентов с разным уровнем внутриглазного давления // Офтальмологическая конференция. Ерошевские чтения. – Самара. – 2017 – С.75-79.
12. Ермолаев А.П., Новиков И.А., Мельникова Л.И., Аветисов К.С. Связь между уровнем секреции внутриглазной жидкости и разницей в химическом составе между влагой передней камеры глаза и сывороткой крови // Современные технологии в офтальмологии. – 2017 – №3 (16) – С. 69-71.