

На правах рукописи

СУРНИНА ЗОЯ ВАСИЛЬЕВНА

**МЕТОДЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ
НЕРВНЫХ ВОЛОКОН РОГОВИЦЫ**

3.1.5. – Офтальмология

АВТОРЕФЕРАТ

*диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук*

Москва – 2023

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

Научный консультант:

академик Российской академии наук,
доктор медицинских наук, профессор

Аветисов Сергей Эдуардович

Официальные оппоненты:

Арутюнян Лусине Леоновна, доктор медицинских наук, ООО Глазной центр «Восток -Прозрение», заведующая диагностическим отделением

Калинников Юрий Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, профессор кафедры глазных болезней

Файзрахманов Ринат Рустамович, доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой глазных болезней Института усовершенствования врачей, заведующий Центром офтальмологии

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Защита диссертации состоится 18 марта 2024 г. в 14-00 на заседании диссертационного совета 24.1.174.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова» по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д. 11, корпус А,Б.

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

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

М.Н. Иванов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень ее разработанности.

Исследование нервных волокон роговицы (НВР) в ряде случаев может быть ключом к патогенетической оценке различных нарушений состояния роговицы, а возрастающий научно-практический интерес к изучению НВР продиктован рядом обстоятельств (Efron N. et al., 2001). Во-первых, внедрением в клиническую практику современных конфокальных микроскопов, позволяющих в режиме реального времени, неинвазивно получать изображения НВР (Auran J.D. et al., 1995; Efron N. et al., 2010; Kohler V. et al., 2020). Во-вторых, необходимостью совершенствования диагностики на междисциплинарном уровне различных вариантов полинейропатии (ПНП), при которой в первую очередь страдают тонкие безмиелиновые нервные волокна, к которым и относятся НВР. Кроме того, актуальность проблемы продиктована увеличением как кераторефракционных, так и интраокулярных хирургических вмешательств, проведение которых увеличивает риск повреждения НВР. Прозрачность роговицы обеспечивает уникальную возможность прижизненной визуализации тонких немиелинизированных нервных волокон.

Выполненные к настоящему времени исследования, посвященные оценке состояния НВР базируются на применении либо тандемных (Lee V.H. et al., 2002; Calvillo M.P. et al., 2004; Erie J.C. et al., 2003; Erie J.C. et al., 2005), либо щелевых (Darwish T. Et al., 2007; Lee S.J. et al., 2007; Patel S.V. et al., 2010) конфокальных микроскопов, что предполагает обследование исключительно центральной зоны роговицы. Качество снимков, получаемых при использовании данных микроскопов значительно уступает качеству лазерных конфокальных микроскопов (Ткаченко Н.В., Астахов С.Ю., 2009; Аветисов С.Э. и соавт., 2015).

Такие морфологические показатели как извитость нервного волокна, длина НВР, их плотность, а также плотность ветвей НВР традиционно вычисляют при помощи полуавтоматических компьютерных программ (Calvillo

M.P. et al., 2004; Hu L. et al., 2015; Kowtharapu B. et al., 2017). Часть анализа исследователям приходится проводить вручную, что не исключает наличия ошибок при мануальной трассировке структур нервного волокна.

Рядом авторов на основе лазерной конфокальной микроскопии роговицы (КМР), было продемонстрировано наличие корреляций между изменениями в структуре нервного волокна роговицы и наличием полинейропатии у пациентов с такими заболеваниями как болезнь Паркинсона, сахарный диабет (СД), системный амилоидоз. При этом выявлена корреляция между степенью повреждения НВР и стадией развития полинейропатии (Krajewski K. et al., 2000; Reilly M. et al., 2007; Shy M. et al., 2012; Lewis K. et al., 2015; Dabby R. et al., 2006; Donadio V. et al., 2014).

Установлено, что при развитии СД в первую очередь страдают тонкие безмиелиновые волокна, в то время как в клинике акцент сделан на оценку повреждения толстых миелиновых волокон, отвечающих за вибрационную и проприоцептивную чувствительность (Галиева О.Р. и соавт., 2005; Одинак М.М. и соавт., 1995; Bril V. et al., 2006). Оценка изменений тонких безмиелиновых волокон существенно ограничена в связи с отсутствием неинвазивных объективных методов анализа. Ряд исследователей отмечает, что показатели плотности, длины, извитости НВР у пациентов с диабетической сенсомоторной нейропатией изменяются уже на субклинической стадии, в то время как электрофизиологическое исследование не всегда обнаруживает признаки полинейропатии на данной стадии, а результаты количественных сенсорных тестов и неврологических шкал отличаются широкой вариабельностью (Николаев С.Г., 2003).

Еще одним маркером полинейропатии, исходя из наличия воспалительного компонента в патогенезе развития заболевания (Dipika V. et al., 2019), могут быть воспалительные макрофаги – клетки Лангерганса, расположенные в непосредственной близости с НВР – количество этих

элементов, как правило, увеличивается в поздних стадиях диабетической полинейропатии. Кроме этого, отмечено увеличение количества этих клеток у пользователей контактных линз и при развитии переднего увеита (Marsovszky L. Et al., 2013; Tepelus T. et al., 2017; Cavalcanti B. et al., 2018; Wu L. et al., 2016; Resch M. et al., 2015; Liu M. et al., 2014; Sindt C. et al., 2012).

Следует отметить, что имеющиеся на сегодняшний день способы оценки состояния НВР не лишены доли субъективного компонента – во многом качество анализа зависит от опыта исследователя. При этом затруднена количественная оценка степени патологических изменений НВР. Совершенствование методов оценки НВР может существенно расширить возможности диагностики и мониторинга различных заболеваний.

Цель исследования: совершенствование методов структурного анализа и оценка изменений НВР при различных офтальмологических, эндокринологических и неврологических заболеваниях.

Задачи исследования

1. Разработать алгоритм объективной оценки структурных изменений НВР и определения количества клеток Лангерганса на основе лазерной конфокальной микроскопии роговицы.

2. Оценить «работоспособность» разработанного алгоритма на клинических моделях, связанных с различными элементами хирургического повреждения и, как следствие, изменениями НВР и клеток Лангерганса (эксимерлазерная коррекция аномалий рефракции методом *LASIK* и *femto-LASIK*, различные методики факохирургии, сквозная кератопластика).

3. На основе полученных данных разработать классификацию структурных изменений НВР в зависимости от нарушения хода и направленности нервных волокон.

4. Изучить состояние НВР и клеток Лангерганса на фоне длительного ношения мягких контактных линз, а также при переднем вирусном увеите,

синдроме сухого глаза, перенесенном кроссликинге роговичного коллагена и первичной открытоугольной глаукоме.

5. Оценить структурные изменения НВР и клеток Лангерганса при системных заболеваниях, сопровождающихся развитием полинейропатии (болезнь Паркинсона, системный амилоидоз, сахарный диабет, коронавирусная инфекция), а также обосновать возможность использования выявленных изменений в диагностике и мониторинге указанных заболеваний.

6. На основе полученных данных разработать рекомендации по применению авторского алгоритма оценки состояния НВР в клинической практике.

Научная новизна

- Впервые на основе авторского современного морфометрического алгоритма анализа выполнен комплекс диагностических исследований по изучению хода и структуры нервных волокон роговицы, произведена объективизация оценки состояния НВР, разработана оценочная шкала структурных изменений НВР.

- Разработан диагностический алгоритм ведения пациентов со структурными нарушениями нервных волокон, основанный на морфометрическом анализе НВР, определены «группы риска» пациентов по предполагаемому развитию ПНП.

- На основе авторского алгоритма анализа конфокальных снимков разработана классификация структурных изменений НВР.

- Впервые детально изучено состояние НВР и клеток Лангерганса на фоне длительного ношения мягких контактных линз, а также при синдроме сухого глаза.

- Выявлены особенности структуры нервного сплетения роговицы при переднем вирусном увеите и первичной открытоугольной глаукоме (патент РФ №2778966 С1 от 29.08.2022г.).

- Изучены структурные нарушения НВР после сквозной кератопластики. Определены изменения в морфологических показателях НВР и клеток Лангерганса, являющиеся маркерами начинающейся реакции отторжения трансплантата роговицы (патент №2770780 С1 от 21.04.2022г.).

- Впервые проанализированы изменения НВР и клеток Лангерганса, а также доказана возможность использования этих изменений в качестве маркеров таких системных заболеваний как болезнь Паркинсона, системный амилоидоз, сахарный диабет, новая коронавирусная инфекция (патент №2724281 С1 от 22.06.2020 г.).

Теоретическая и практическая значимость исследования

- Разработан алгоритм анализа конфокальных снимков для объективизации оценки структуры НВР.

- Разработана и внедрена классификация структурной оценки НВР для выявления «группы риска» при начальных признаках нарушения хода и направленности нервного волокна.

- Обнаружена возможность развития выраженных изменений структуры нервного волокна и клеток Лангерганса при синдроме сухого глаза, а также на фоне длительного ношения мягких контактных линз.

- Определена необходимость применения разработанного алгоритма в диагностике и мониторинге полинейропатии различного генеза (болезнь Паркинсона, системный амилоидоз, сахарный диабет, постковидный синдром).

- Доказана возможность использования структурной оценки НВР и клеток Лангерганса в качестве дополнительного критерия оценки течения первичной открытоугольной глаукомы.

- Определена возможность применения КМР в качестве дополнительной диагностической манипуляции при реакции отторжения трансплантата после сквозной пересадкой роговицы.

Основные положения, выносимые на защиту

- На основе авторского алгоритма выявлены качественные (усиление извитости) и количественные (уменьшение коэффициента анизотропии и увеличение коэффициента симметричности направленности волокон) изменения НВР при таких системных заболеваниях как болезнь Паркинсона, системный амилоидоз, сахарный диабет, коронавирусная инфекция.
- Большое значение имеет исходное состояния структуры НВР у пациентов после различных офтальмохирургических операций (лазерная коррекция зрения, факохирургия, кератопластика).
- Способность к регенерации НВР обнаруживается у всех пациентов вне зависимости от исходной глазной или системной патологии.
- Стандартное неврологическое обследование пациентов с постковидным синдромом может быть дополнено специальными методами структурно-функциональной оценки состояния периферических нервов, в частности, КМР.
- Увеличение количества и длины отростков воспалительных клеток Лангерганса, как правило, выявляют при нарушении направленности и структуры НВР.

Методология и методы диссертационной работы

Методологической основой диссертационной работы явилось применение комплекса методов научного познания. Диссертационная работа выполнена в соответствии с принципами научного исследования. При выполнении работы соблюдены схема и этапы научного исследования. В настоящей работе сочетаются методологии качественных и количественных исследований. Работа выполнена в дизайне проспективного, когортного сравнительного клинического исследования с использованием клинических, морфологических, инструментальных, аналитических и статистических методов.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования внедрены в клиническую практику ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова», кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет).

Результаты работы внедрены в учебные программы преподавания глазных болезней ординаторам и аспирантам ФГБНУ «НИИБ им. М.М.Краснова» и студентам ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова».

Личный вклад автора в проведенные исследования заключается в непосредственном участии во всех клинических исследованиях, проведении диагностических манипуляций, апробации результатов, подготовке докладов и печатных работ по представленной работе. Статистическая обработка и анализ полученных результатов выполнены лично автором.

Степень достоверности и апробации результатов

Степень достоверности результатов исследования подтверждена достаточным и репрезентативным объемом выборок. Работа выполнена в стандартизированных условиях. Анализ результатов проведен с применением современных методов сбора и обработки научных данных.

Основные работы изложены в ходе следующих научных мероприятий: VII-ой Всероссийский круглый стол офтальмологов с международным участием «Макула 2016» (Ростов-на-Дону); Всероссийская научная конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» 2016 (Москва); Заседание общества офтальмологов Астраханской области: Проблемы офтальмопатологии при эндокринных заболеваниях 2017 (Астрахань); XXIII офтальмологический конгресс «Белые ночи», 2017 (Санкт-Петербург).; XVI Всероссийская Школа офтальмолога 2017 (Московская область, Снегири); VIII международный симпозиум «Осенние рефракционные чтения 2017 (Москва)»; XVII Всероссийская Школа офтальмолога 2017 (Московская область, Снегири); «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов». Восьмая Всероссийской научно-практической

конференции с международным участием. 2018 (Новосибирск); XVIII Всероссийская Школа офтальмолога 2018 (Московская область, Снегири); IV Congress of the European Academy of Neurology 2018 (Lisbon, Portugal); VI научно-практическая конференция «Офтальмологические образовательные университеты» 2018 (Москва); Восток – Запад. Международная конференция по офтальмологии 2019 (Уфа); IX международный симпозиум «Осенние рефракционные чтения 2018» (Москва); Междисциплинарная Конференция с международным участием «Вейновские чтения» 2019 (Москва); Научная конференция офтальмологов с международным участием «Невские горизонты», 2020 (Санкт-Петербург); XII научно-практическая конференция «Офтальмологические образовательные университеты» 2021 (Москва); XI международный симпозиум «Осенние рефракционные чтения 2021» (Москва); XII международный симпозиум «Осенние рефракционные чтения 2022» (Москва), XIII научно-практическая конференция «Офтальмологические образовательные университеты», 2022 (Москва); DOG 2022 Estrel Congress & Messe Center Berlin (Eastern Berlin, Germany); DOG 2023 Estrel Congress & Messe Center Berlin (Eastern Berlin, Germany); 23 Всероссийский научно-практический конгресс с международным участием «Современные технологии катарактальной, рефракционной и роговичной хирургии» 2023 (Москва).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 49 научных работ, из них 38 – в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых журналов, рекомендованных ВАК, 1 – в зарубежной печати. Получено 3 патента РФ на изобретения.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация изложена на 244 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 51 рисунком. Библиографический указатель содержит 364 источника (53 отечественных и 236 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика материала

Общая характеристика материала в зависимости от поставленных в работе задач представлена в таблице 1.

Таблица 1. Общая характеристика материала исследования

| № | Задача исследования | Характеристика материала | Общее количество наблюдений |
|----|---|---|--|
| 1. | Разработка алгоритма объективной оценки структурного анализа изменений НВР и определения количества клеток Лангерганса | «Здоровые» добровольцы | 400 глаз |
| 2. | Оценка «работоспособности» разработанного алгоритма на клинических моделях, связанных с различными элементами хирургического повреждения и, как следствие, изменениями НВР и клеток Лангерганса | Пациенты, перенесшие эксимерлазерную коррекцию аномалий рефракции | LASIK: 65 глаз femto-LASIK: 33 глаза |
| | | Пациенты после различных методик факохирургии | Ультразвуковая факоэмульсификация: 30 глаз Гибридная факоэмульсификация: 30 глаз Экстракапсулярная экстракция катаракты: 15 глаз |
| | | Пациенты после сквозной кератопластики | 34 глаза |

| | | | |
|----|---|--|------------------------------|
| 3. | Оценка состояния НВР и клеток Лангерганса при различных офтальмологических заболеваниях | Пациенты с передним вирусном увеитом | 23 глаза |
| | | Пациенты с первичной открытоугольной глаукомой | 124 глаза |
| | | Пользователи мягких контактных линз | 64 глаза |
| | | Пациенты с синдромом сухого глаза | 46 глаз |
| | | Пациенты, перенесшие кросслинкинг коллагена роговицы | 30 глаз |
| 4. | Оценка структурных изменений НВР и клеток Лангерганса при системных заболеваниях, сопровождающихся развитием полинейропатии | Пациенты с болезнью Паркинсона | 30 глаз |
| | | Пациенты с системным амилоидозом | 34 глаза |
| | | Пациенты с сахарным диабетом | СД1: 90 глаз СД2: 95 глаз |
| | | Пациенты с постковидным синдромом | 29 глаз |

Методы исследования

Для выполнения поставленных в работе задач были использованы как стандартные, так и специальные методы исследования. Все использованное в работе клиничко-диагностическое оборудование сертифицировано и разрешено для практического применения на территории РФ.

Всем пациентам проводили комплексное офтальмологическое обследование, включающее: визометрию, периметрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию в условиях медикаментозного мидриаза.

Для лабораторной диагностики у пациентов с вирусным увеитом проводили ИФА крови на специфические антитела (иммуноглобулины классов

М и G) к вирусам герпеса: вирусу простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1), вирусу простого герпеса 2-го типа (ВПГ-2), цитомегаловирусу (ЦМВ), вирусу Эпштейна-Барр (ВЭБ), вирусу варицелла зостер (ВВЗ). У части пациентов (в случае лабораторной верификации ЦМВ и ВПГ 1-го и 2-го типов) определяли avidность антител класса IgG к указанным типам вирусов.

Пациентам с синдромом сухого глаза (ССГ) дополнительно проводили тест Ширмера I, пробу Норна, окрашивание роговицы флюоресцеином, оцениваемое по Оксфордской шкале и определяли осмолярность слезы (*TearLabSystem*, США).

Пациентам с наличием первичной открытоугольной глаукомы были дополнительно выполнены следующие диагностические манипуляции: гониоскопия, офтальмоскопия, периметрия, пневмотонометрия, а также оптическая когерентная томография (ОКТ) диска зрительного нерва и сетчатки. Периметрия выполнялась на приборе *Humphrey Field Analyzer II-i 750i* (*Carl Zeiss*, Германия) с применением пороговой программы исследования «*SITA-Standard*». Анализировали суммарную светочувствительность периферического поля зрения, суммарную светочувствительность центрального поля зрения, индексы среднеквадратичного отклонения (PSD, англ. *pattern standard deviation*), среднего отклонения (MD, англ. *mean deviation*) рассчитываемые прибором с учетом собственной базы данных. Оптическую когерентную томографию диска зрительного нерва и сетчатки выполняли при помощи оптического когерентного томографа *RTVue-100* (*Optovue*, США), при этом анализировали показатели толщины слоя ганглиозных клеток сетчатки и слоя нервных волокон сетчатки (ГКС и СНВС). Пневмотонометрия выполнялась на приборе *Reichert ORA* с определением роговично-компенсированного ВГД и ВГД по Гольдману.

Неврологический осмотр пациентов с коронавирусной инфекцией, СД, болезнью Паркинсона и системным амилоидозом включал в себя оценку двигательных и чувствительных нарушений в конечностях, а также выявление

наличия чувствительных нарушений в зоне боли на туловище и лице. Для измерения интенсивности боли использовали визуальную аналоговую шкалу (ВАШ) и *NIS*. Также для оценки невропатической боли были использованы опросники *PAINDETECT*, *DN-4*, оценочная шкала невропатических симптомов и признаков университета г. Лидс.

Состояние периферических нервов оценивалось с помощью метода электронейромиографии (ЭНМГ) (аппарат МБН, Россия). При этом анализировали следующие показатели: скорость распространения возбуждения (СРВ) по периферическим нервам, амплитуды *M*- и *S*-ответов, резидуальная латентность, показатели F-волны (средняя СРВ, минимальная латенция, процент выпадений). В зоне ощущения неприятных болевых ощущений всем пациентам проводилось количественное сенсорное тестирования (КСТ) (Россия).

Для исключения влияния слезной пленки на результаты прямой оценки чувствительности роговицы нами было апробировано оригинальное устройство на базе фотоцелевой лампы *Haag-Streight BQ900* (*Haag-Streit* Bern, Швеция), оснащенной стационарным параболическим тисаскопом (патент RU 121434) и цифровой камерой *Canon 750D* (*Canon corp.*, Япония).

В качестве специального метода исследования была использована лазерная КМР на Гейдельбергском ретинальном томографе *HRT III* со специальной насадкой для роговицы *Rostock Cornea*. Применяли авторские алгоритмы: *Liner Calculate* и *Liner 1.2 S*. При помощи первого программного обеспечения (ПО) анализировали такие морфометрические показатели структуры нервного волокна как: длина и плотность основных нервных стволов, длина и плотность их отростков, а также плотность клеток Лангерганса и длина их отростков (рис. 1). Дополнительно нами производился анализ структуры нервного волокна на основе его извитости, для этого были рассчитаны авторские коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР (ПО *Liner 1.2S*).

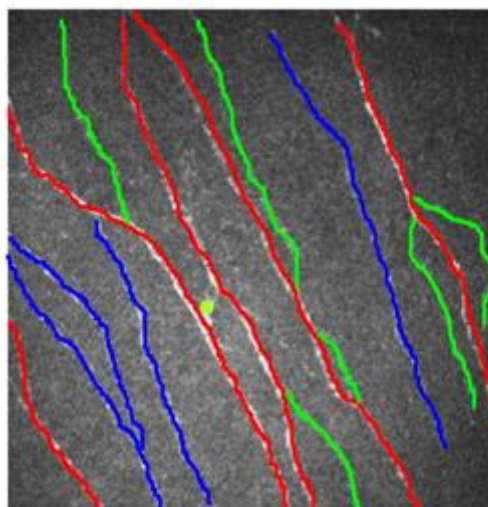


Рисунок 1. Интерфейс программы Liner Calculate в процессе обработки изображения. Красным цветом обозначены основные НВР, зеленым цветом – отростки основных НВР, синим цветом – дополнительные НВР и их отростки, точечное обозначение зеленым цветом – макрофагальные клетки

Статистический анализ и оценку достоверности полученных результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel 2010 (*Microsoft*, США) и SPSS Statistics 22 (*IBM*, США). Распределение пациентов в группах и общее количество наблюдений позволило применять методы параметрической статистики. При распределении всех исследуемых показателей, близком к нормальному, в качестве характеристик распределения использовали среднее и стандартное отклонение ($M \pm \delta$). При сравнении параметров в двух выборках применяли парный критерий *t*-тест Стьюдента. Корреляционный анализ проводили методом линейного коэффициента Пирсона *r*. Статистическая проверка считалась пройденной при $p = 0,05$. Для анализа значимости различий средних значений трех и более выборок применяли дисперсионный анализ ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработка алгоритма объективной оценки структурных изменений НВР и определения количества клеток Лангерганса

На основе анализа 772 случаев (772 глаза) различной патологии нервных волокон и 400 случаев (400 глаз) участников группы контроля разработан авторский алгоритм анализа изменений нервных волокон роговицы (рис. 2).



Для выявления нарушения хода и структуры НВР необходимо наличие одного основного и не менее двух дополнительных критериев!

Рисунок 2. Схематическое изображение алгоритма поиска структурных нарушений НВР

Основываясь на показателях извитости нервных волокон роговицы (коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР), показателях длины и плотности основных нервных стволов, а также дополнительном наличии микроневром и изменении количества воспалительных дендритиформных макрофагов (клеток Лангерганса), был разработан алгоритм поиска структурных нарушений нервных волокон.

В качестве основного признака, характеризующего структуру нервного

волокна, выделен показатель извитости НВР. К дополнительным значениям по данным КМР, которые необходимы для подтверждения нарушения хода и структуры НВР, относят следующие: длина и плотность основных нервных стволов, наличие микроневром, а также увеличение количества клеток Лангерганса, длины и количества их отростков. Подтверждением наличия структурных нарушений может служить наличие основного критерия анализа НВР и как минимум двух дополнительных. В случае подтверждения высокого риска структурного нарушения нервных волокон пациенту обязательно рекомендуется консультация невролога, в ряде случаев – эндокринолога с последующим динамическим наблюдением за состоянием НВР.

Для вычисления коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР было применено авторское ПО – *Liner 1.2 S*, для определения длины и плотности основных нервных стволов, а также их отростков нами использовался дополнительный авторский алгоритм – *Liner Calculate*. Последнее ПО также позволяло рассчитать особенности структуры макрофагов: количество и длину их отростков.

Основными достоинствами нового подхода к морфометрическому анализу НВР являются отсутствие зависимости от способа получения конфокального изображения нервной сети, толерантность к условиям локального освещения и прозрачности сред, а также минимальная зависимость от выбора точки получения конфокального изображения в пределах роговицы.

При попытке разработки метода анализа чувствительности роговицы нами определено, что биомеханическое сопротивление слезной пленки не дает возможности проведения достоверного анализа эстезиометрии. Стабильность слезной пленки во многом зависит от физических свойств слезы, как следствие поверхностное натяжение не позволяет производить адекватный анализ чувствительности поверхности роговицы. В связи с этим было принято решение

об отказе от дальнейшей оценки чувствительности роговицы как способа оценки функционального состояния НВР.

Для анализа НВР в итоге пользовались анатомо-морфометрическими значениями, пренебрегая субъективными значениями эстезиометрии.

Основываясь на таких параметрах как $K_{\Delta L}$ (коэффициент анизотропии направленности НВР), K_{sym} (коэффициент симметричности направленности НВР), длине основных нервных стволов, плотности основных нервных стволов, а также количестве макрофагов и микроневром, нами разработана морфометрическая классификация нарушений структуры роговичных нервных волокон (таблица 2).

Таблица 2. Стадии структурных нарушений НВР

| Стадия | $K_{\Delta L}$ | K_{sym} | Длина основных нервных стволов (мм/мм ²) | Плотность основных нервных стволов (волокну/мм ²) | Количество макрофагов | Количество микроневром |
|--------|----------------|-----------|--|---|-----------------------|------------------------|
| I | 2,53–2,37 | 0,96–0,97 | 47,40–41,20 | 20–18 | ≥4 | ≥1 |
| II | 2,36–2,22 | 0,97–0,98 | 41,19–34,62 | 17–16 | ≥5 | 1–2 |
| III | 2,21–2,11 | ≤0,98 | 34,61–28,54 | 16–15 | ≥6 | ≥2 |
| IV | ≤ 2,11 | ≤0,98 | ≤28,53 | ≤14 | ≥8 | ≥2 |

Согласно авторской классификации, нарушение хода и структуры НВР условно можно разделить на IV стадии. Так, например, для установления I стадии необходимо, чтобы значения $K_{\Delta L}$, K_{sym} , длины основных нервных стволов, плотности основных нервных стволов, количество макрофагов и количество микроневром составили соответственно: 2,53–2,37; 0,96–0,97; 20–18 волокон/мм²; 4 и более; 1 и более. Основные значения, на которые мы ориентировались при анализе: коэффициент анизотропии направленности НВР и длина основных нервных волокон. В первую очередь изменения именно этих показателей дает нам право определять стадию.

В данной классификации мы ориентировались только на морфометрические показатели структуры НВР. Нами не были учтены результаты электронейромиографии и количественного сенсорного тестирования. В случае прогрессирования структурных нарушений НВР по данным КМР, пациент сразу перенаправлялся в клинику неврологии, где в дальнейшем проводили диагностику появившихся изменений и в случае необходимости назначали необходимое лечение.

Оценка состояния НВР и клеток Лангерганса при различных офтальмологических заболеваниях

Основные направления исследований были нацелены на анализ с помощью лазерной конфокальной микроскопии и описанного программного обеспечения состояния НВР у пациентов с синдромом сухого глаза, первичной открытоугольной глаукомой, вирусным увеитом, у пользователей мягких контактных линз, а также после перенесенного кросслинкинга роговичного коллагена.

При количественной оценке структурных изменений роговицы на фоне *длительного ношения мягких контактных линз* (МКЛ) были выявлены изменения структуры роговицы в той или иной степени выраженности. В исследование включено 62 человека (124 глаза): 32 пациента (64 глаза) с миопией различной степени, использующие в качестве оптической коррекции мягкие контактные линзы (МКЛ) в течение 7–15 лет и 30 человек (60 глаз) группа контроля, имеющие аметропию слабой степени и использующие только очковую коррекцию. Пользователи МКЛ, в свою очередь, были разделены на две группы: в первую группу были включены 15 пациентов (30 глаз), использующих слезозаместительную терапию в виде препарата на основе трегалозы и гиалуроновой кислоты 2 раза в день в течение трех месяцев. Вторую группу составили 17 пациентов (34 глаза), не получавших какую-либо слезозаместительную терапию на фоне ношения МКЛ. В данное исследование

включены пациенты, носящие МКЛ плановой замены (двухнедельной и ежемесячной) из силикон-гидрогелевого материала.

Наименее выраженные изменения роговицы были зафиксированы в группе контроля: на фоне интактных слоев роговицы регистрировали увеличение количества макрофагов в передних слоях, нервные волокна вытянуты, однонаправлены. Невыраженные нарушения роговицы удалось обнаружить у пациентов, которым проводилась инстилляционная слезазаменительная терапия на основе трегалозы и гиалуроновой кислоты. При этом были отмечены такие изменения эпителиальных слоев роговицы как: локальная эпителиопатия, полиморфизм клеток базального слоя. Нервные волокна были частично извиты, ход их нарушен, при этом длина и плотность основных нервных стволов оставались в пределах относительной нормы. Также отмечали незначительные изменения в структуре передней стромы, заключающиеся в увеличении количества гиперрефлектирующих кератоцитов. Слои средней и задней стромы, а также эндотелий роговицы остались интактными.

У участников второй группы были выявлены более выраженные структурные изменения, чем у участников первой группы. Эпителиопатия была более выражена, также отмечали полиморфизм и полимегатию клеток переднего эпителия. Нервные волокна были более извитыми, чем у участников первой группы, что отразилось в увеличении коэффициента анизотропии направленности НВР и обратном пропорциональном снижении коэффициента симметричности, при этом длина и плотность НВР выражено не менялись.

У всех участников исследования обнаружено увеличение количества клеток Лангерганса на фоне ношения МКЛ. Количество воспалительных макрофагов не коррелировало со степенью выраженности синдрома сухого глаза и длительностью ношения линз, а также не зависело от анатомо-морфометрических показателей нервных волокон роговицы.

Нами была выявлена сильная прямая корреляционная связь между показателем анизотропии направленности НВР и длительностью ношения контактных линз ($r=0,74, p<0,005$). Однако корреляционная связь между длиной НВР, их плотностью и длительностью ношения МКЛ не была обнаружена. Отмечали тенденцию к снижению длины и плотности НВР на фоне длительного ношения МКЛ.

Наглядно данные по структуре нервных волокон роговицы представлены в таблице 3.

Таблица 3. Средние значения извитости, длины и плотности НВР у пациентов-пользователей МКЛ 1-ой и 2-ой групп исследования, а также участников группы контроля

| | Группа 1 | Группа 2 | Контроль |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| Kaniz | 3,2±0,7 | 3,0±0,6 | 4,4±0,8 |
| Ksym | 0,9±0,04 | 0,9±0,05 | 0,9±0,03 |
| Длина НВР (мм/мм²) | 98,4±7,1 | 74,2±3,5 | 109,5±12,6 |
| Плотность НВР (волокно/мм²) | 7,3±0,8 | 5,7±1,9 | 9,6±1,6 |
| Количество макрофагов (в поле зрения) | 5,5±1,4 | 17,6±0,9 | 3,8±1,2 |

Проведя исследование в группе пациентов с *синдромом сухого глаза*, мы пришли к выводу, что ход и структура НВР, а также структура передних слоев роговицы подвергаются изменению. В исследование было включено 46 пациентов, все они получали различные варианты слезозаместительной терапии и были уравнены по гендерному и возрастному составу. Пациенты закапывали препараты слезозаместительной терапии четыре раза в день в оба глаза в течение одного месяца.

Результаты лазерной КМР роговицы также выявили наличие воспалительных клеток Лангерганса. К структурным изменениям нервных волокон, сопровождающим развитие ССГ, были отнесены следующие

изменения: частичная извитость НВР, нарушение их хода, тенденция к уменьшению длины и плотности основных нервных стволов. При этом отмечали также структурные нарушения других передних слоев роговицы, заключающиеся в локальных эпителиопатиях, полиморфизме клеток базального слоя, а также увеличении количества гиперрефлективных ядер кератоцитов.

При анализе хода и структуры нервных волокон роговицы у пациентов с *первичной открытоугольной глаукомой* (ПОУГ) отмечалась разнонаправленность хода НВР, также отмечена прерывистость хода НВР, визуализировали микроневромы. Плотность основных нервных стволов и их отростков, коэффициент анизотропии, характеризующий извитость НВР, были ниже нормы, что, говорит о наличии чрезмерной извитости нервного волокна. Пациенты получали консервативную терапию в виде инстилляций глазных капель. Из исследования были исключены пациенты с перенесёнными оперативными вмешательствами на глазу, а также пациенты с перенесёнными заболеваниями переднего отрезка глаза в анамнезе.

Средние значения коэффициентов анизотропии и симметричности НВР у пациентов с ПОУГ представлены в таблице 4.

Таблица 4. Средние значения коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР в норме и у пациентов с ПОУГ

| | Норма | ПОУГ I | ПОУГ II | ПОУГ III | ПОУГ IV |
|--------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|
| Kaniz | 3,89±0,3 | 2,295±0,46 | 2,81±0,25 | 2,1±0,21 | 2,81±0,25 |
| Ksym | 0,93±0,03 | 0,93±0,02 | 0,92±0,02 | 0,91±0,03 | 0,94±0,03 |

В данной работе нами был использован анализ структуры нервного волокна с учётом его извитости и дополнительно – анализ длины и плотности как основных характеристик направленности и хода НВР, также отдельно была проанализирована структура воспалительных макрофагов при различных стадиях глаукомного процесса.

Средние значения длины и плотности основных нервных стволов, а также их отростков у пациентов с ПОУГ представлены в таблице 5.

Таблица 5. Показатели длины и плотности основных стволов НВР и их отростков в норме и у пациентов с ПОУГ

| | Норма | ПОУГ I | ПОУГ II | ПОУГ III | ПОУГ IV |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Длина основных НВР (мм/мм²) | 71,12±4,9 | 71,46±4,9 | 74,11±4,5 | 76,12±5,2 | 56,37±4,3 |
| Плотность основных НВР (волокно/мм²) | 6,3±0,7 | 7,3±2,1 | 6,4±0,9 | 6,6±1,4 | 4,7 ±1,3 |
| Длина отростков НВР (мм/мм²) | 51,12±6,1 | 31,55±4,3 | 30,51±6,2 | 22,35±4,8 | 17,46±3,9 |
| Плотность отростков НВР (волокно/мм²) | 4,7±0,9 | 4,8±2,1 | 3,4±0,8 | 2,9±1,2 | 2,8±0,8 |
| Количество клеток Лангерганса | 9,5±1,5 | 14,6±2,0 | 17,4±1,8 | 16,7±2,5 | 17,4±2,5 |

Следует обратить внимание, что указанные значения авторских коэффициентов, а также показатели длины и плотности НВР достаточно переменчивы в норме, во многом данные характеристики структуры НВР зависят от возраста, перенесенных в анамнезе заболеваний и др. В разных подгруппах пациентов мы использовали различные возрастные показатели морфометрических значений НВР, в связи с этим в разных таблицах указаны отличающиеся друг от друга значения нормы.

Нами было отмечено, что степень извитости нервного волокна (коэффициенты анизотропии и симметричности НВР) зависят от стадии глаукомного процесса ($p < 0,05$, $r = 0,62$; $p < 0,05$, $r = 0,65$), но нами не выявлено корреляционных связей между уровнем ВГД, данными ОКТ ДЗН, показателями компьютерной периметрии и данными *ORA* с авторскими коэффициентами. Выявлены отрицательные корреляции средней силы между показателями длины основных нервных волокон и их плотности с данными периметрии (*MD* и *PSD*) ($r = 0,6$, $p < 0,005$; $r = 0,54$, $p < 0,005$; $r = 0,62$, $p < 0,005$; $r = 0,57$, $p < 0,005$), а также положительные корреляции средней силы с показателем ОКТ ДЗН (*RNFL thickness*) (по данным программы *Liner Calculate*) ($r = 0,62$, $p < 0,005$; $r = 0,59$,

$p < 0,005$). Корреляций между стадией глаукомного процесса и длиной основных НВР, их отростков, а также плотностью основных НВР и их отростков не выявлено.

Нами было установлено не только увеличение количества и плотности клеток Лангерганса, но и увеличение длины их отростков. При этом нами обнаружена достоверная корреляция между стадией глаукомы и воспалительной реакцией роговицы ($p < 0,05$, $r = 0,63$). Рассматриваемая рядом авторов иммунная этиология процесса развития глаукомы, помогает обосновать увеличение числа и плотности макрофагов при развитии ПОУГ. Возможно, имеет значение состав и кратность инстилляций лекарственных препаратов, косвенно влияющих на состояние роговицы, также нельзя исключить увеличение воспалительной реакции, связанное с возрастными особенностями роговицы.

Изменение структуры нервных волокон роговицы возможно объяснить, в том числе, развитием глаукомной склеропатии и, как следствие, происходящим нарушением структуры фиброзной оболочки. В свою очередь роговица и её нервные волокна, являясь структурными элементами фиброзной оболочки, претерпевают последующие изменения, которые выражаются, в том числе, в нарушении хода и структуры НВР.

На фоне *увеита* герпесвирусной этиологии в большинстве случаев было выявлено значительное увеличение числа дендритных макрофагальных клеток Лангерганса. Количество и длина отростков макрофагальных клеток Лангерганса были весьма изменчивыми и зависели от активности воспалительного процесса – количество отростков варьировало от трёх до шести. Появление и/или увеличение в роговице макрофагов можно расценивать как закономерное явление, исходя из известного факта активации иммунной системы при вирусной инфекции.

Ход и структура НВР также были изменены: выявлены повышенная рефлективность и «четкообразность», а также наличие дугообразной

деформации стромальных волокон. При этом НВР были существенно извиты, контактировали друг с другом, формируя при этом фигуру, по форме приближенную к кругу. Отмеченные изменения, возможно, обусловлены нейротропностью вирусов герпеса. В связи с этим исследование периферических нервных волокон и в том числе НВР в качестве потенциальных маркеров активности воспалительного процесса представляется перспективным направлением исследований.

Непосредственно после *кросслинкинга роговичного коллагена* отдельные НВР становились «чёткообразными» и извитыми. Потенциальные причины изменений НВР после выполнения манипуляции могут быть связаны как с дезэпителизацией роговицы, так непосредственно – воздействием ультрафиолетового излучения. В сроки наблюдения до шести месяцев количество основных нервных стволов и их ветвей значительно снизилось, также отмечали уменьшение длины и плотности основных НВР и их отростков. Выявленное уменьшение коэффициента анизотропии направленности в течение первых трех месяцев после проведения процедуры кросслинкинга свидетельствовало о наличии патологической извитости НВР. В срок наблюдения 12 месяцев отмечено постепенное восстановление структуры нервного волокна. Помимо этого, обращало на себя внимание увеличение количества микроневром, которое можно расценить как признак попытки активной регенерации. Количество макрофагов при этом достоверно не коррелировало со структурными изменениями НВР и в разные сроки после манипуляции было различным.

Оценка «работоспособности» разработанного алгоритма на клинических моделях, связанных с различными элементами хирургического повреждения

Суммируя полученные данные по конфокальной микроскопии роговицы у пациентов с перенесенными оперативными вмешательствами на органе зрения такими как различные варианты *факоэмульсификации катаракты, экстракапсулярная экстракция катаракты, сквозная кератопластика*, а также различные варианты *эксимерлазерной коррекции аметропий (LASIK и femto-LASIK)* выявлена общая тенденция к морфо-структурному нарушению нервных волокон роговице в послеоперационном периоде.

Всего было обследовано 34 пациента (34 глаза), перенесших сквозную кератопластику при помутнениях роговицы различной этиологии, также 60 пациентов (60 глаз) после различных вариантов факохирургии: 30 – ультразвуковая факоэмульсификация, 30 – гибридная факоэмульсификация, 15 – экстракапсулярная экстракция катаракты. Также в исследование было включено 98 глаз пациентов, подвергшихся различным вариантам лазерной коррекции аномалий рефракции. Основную группу пациентов после лазерной коррекции зрения составили 65 случаев, среди них 56 случаев с миопией слабой, средней и высокой степени и астигматизмом не более 3,0 дптр и 9 случаев с гиперметропией слабой и средней степени и астигматизмом не более 3,0 дптр. В 65 случаях была выполнена лазерная коррекция зрения по методу *LASIK*, в 33 – по методу *femtoLASIK*.

Примечательно, что вне зависимости от способа формирования роговичного лоскута через 1 месяц после *эксимерлазерной коррекции* миопии в центральной зоне роговицы НВР обнаружены не были. Через 3 месяца во всех случаях (33 глаза) после *Femto-LASIK* и только в 2-х (2 глаза) после *LASIK* впервые визуализировали НВР в центральной зоне роговицы. Также через 6 месяцев после *LASIK* коэффициент анизотропии направленности НВР в

центральной зоне был статистически значимо снижен по сравнению с исходными значениями до оперативного вмешательства. Аналогичные изменения были выявлены через 3 и 6 месяцев после *Femto-LASIK*, при этом, начиная с 3-го месяца после вмешательства, отмечена достоверная тенденция к увеличению показателя анизотропии направленности НВР.

Нами также отмечено, что при проведении исследований, касающихся состояния НВР после эксимерлазерной коррекции, следует учитывать исходные изменения НВР при миопии. Возможно формирование исходных нарушений структуры нервного волокна у пациентов с миопией связано с увеличением переднезаднего отрезка глазного яблока. Несмотря на общую «восполняемость» НВР в центральной зоне роговицы в результате процессов реиннервации, независимо от способа формирования роговичного лоскута у пациентов, подвергшихся лазерной коррекции аномалий рефракции через 6 месяцев после вмешательства отмечена общая тенденция к уменьшению значений коэффициента анизотропии и обратно пропорциональному увеличению коэффициента симметричности.

Отсутствие полноценной иннервации в центральной зоне роговицы в течение первых 3-х месяцев после вмешательства может быть одной из причин нарушений увлажнения глазной поверхности в раннем послеоперационном периоде. С учетом изменений количественных показателей, характеризующих состояние НВР, вопрос «полноценности», восстановленных в результате реиннервации нервных волокон, остается открытым.

Учитывая распространенность метода эксимерлазерной коррекции миопии и ожидаемую продолжительность жизни пациентов в будущем возможны объективные сложности в использовании в этих случаях НВР в качестве биомаркеров системных полинейропатий различного генеза, не исключены также сложности с потенциальным использованием донорского

материала пациентов, которым ранее была выполнена лазерная коррекция аномалий рефракции.

После *сквозной кератопластики* иннервация трансплантата через год после операции была представлена единичными извитыми нервными волокнами в суббазальном слое на периферии кератотрансплантата лишь в 20 % случаев, при этом расположение НВР имело неупорядоченный характер. На протяжении всего периода наблюдения (два года) сохранялось значительное снижение плотности и извитости нервных волокон. Наличие НВР в центральной зоне было зарегистрировано лишь в трети случаев после вмешательства в течение первых двух лет послеоперационного наблюдения. Существенной зависимости структурных изменений НВР от особенностей течения послеоперационного периода (прозрачное приживление или выраженная в той или степени реакция отторжения трансплантата) выявлено не было.

При этом нами определено изменение количества и структуры клеток Лангерганса как одного из маркеров системной воспалительной реакции. Являясь профессиональным антигенпрезентирующим клеткам, способным индуцировать иммунный ответ, клетки Лангерганса активно реагировали на нарушение трофики ткани роговицы. Так достоверное увеличение количества данного типа макрофагов позволяло предположить наличие рисков развития реакции отторжения трансплантата и использовать такие показатели как увеличение общего числа и длины отростков клеток Лангерганса в качестве маркера активной воспалительной реакции.

Оценка структурных изменений НВР и клеток Лангерганса при системных заболеваниях, сопровождающихся развитием полинейропатии

Основные исследования были направлены на оценку с помощью лазерной конфокальной микроскопии и описанного программного обеспечения состояния НВР при различных клинических формах системных полинейропатий.

В исследование были включены пациенты с сахарным диабетом 1 – го и 2 – го типа: 90 и 95 глаз соответственно. Из исследования были исключены пациенты с перенесенными оперативными вмешательствами на органе зрения, активной воспалительной реакцией, а также пациенты, инстиллирующие какие-либо глазные препараты. Также в работу не включали пациентов с признаками ПНП иной этиологии.

При *сахарном диабете* отмечено достоверное уменьшение средних значений коэффициента анизотропии направленности НВР при менее выраженных изменениях коэффициента симметричности направленности. В силу малых значений коэффициента симметричности и его относительно слабой тенденции к изменению у пациентов с СД было принято решение пренебречь его значением. Также отмечали статистически достоверное уменьшение длины НВР, их плотности не зависимо от типа СД и длительности его течения. Однако степень снижения коэффициента анизотропии зависела от типа СД и стадии ДПН: при субклинической и клинической полинейропатии у пациентов с СД 1-го типа средние значения этого коэффициента оказались меньше по сравнению с аналогичными показателями при СД 2-го типа. При этом установлено, что изменения структуры НВР в виде увеличения их извитости и нарушения ориентированности хода происходят уже на ранней (субклинической) стадии диабетической полинейропатии.

В целом изменения структуры нервных волокон роговицы при СД можно расценить как проявление локальной нейропатии. При этом нервные волокна выражено извиты, длина и плотность их снижены, также обращает на себя внимание увеличение количества клеток Лангерганса, длина отростков которых, как правило, увеличена.

При таком системном заболевании как *амилоидоз* (*TTR*- и *AL*-формы) изменения количественных показателей НВР подтверждают наличие тенденции к нейропатии. В основную группу исследования были включены 16 пациентов с

морфологически доказанным первичным AL-амилоидозом и 14 пациентов с подтвержденным генетически и морфологически наследственным TTR-амилоидозом.

Отмечали, что независимо от типа системного амилоидоза какой-либо зависимости указанных изменений от стажа заболевания и тяжести невропатических нарушений по шкале *NIS* не выявлено. Однако наблюдали общую тенденцию к нарушению извитости нервного волокна. Возможно, отсутствие выраженной достоверной корреляции связано с относительно небольшой выборкой и коротким периодом наблюдения за пациентами.

При обследовании 29 пациентов, перенесших **коронавирусную инфекцию**, были выявлены изменения длины и диаметра НВР, нарушения равномерности хода, «чёткообразность» структуры нервного волокна; в поле зрения попали микроневромы. При этом обращала на себя внимание тенденция к уменьшению значений коэффициента анизотропии направленности. Нарушения структуры НВР в ряде случаев были частичными: одновременно часть нервных волокон оставалась интактной. Следует отметить, что подобные изменения структуры НВР часто наблюдают при заболеваниях, сопровождающихся развитием полинейропатии. В связи с этим судить о патогномности данных изменений не представляется возможным. Кроме того, большая часть изменений структуры нервного волокна имела фрагментарный и обратимый характер повреждения.

У 30 пациентов на фоне **болезни Паркинсона** установлено достоверное снижение коэффициента анизотропии направленности НВР и увеличение коэффициента симметричности направленности НВР. При этом НВР были выражено извиты, разнонаправлены, «чёткообразны», наблюдали увеличенное количество ответвлений от основных нервных стволов. В ряде случаев было выявлено присутствие микроневром и клеток Лангерганса, наличие которых может сопровождать нарушения структуры НВР и являться косвенным

признаком воспалительного процесса. Обратило на себя внимание обнаружение депозитов в передних слоях стромы, наличие которых не коррелировало со стадией основного заболевания и не было связано с объемом применяемых пациентами лекарственных средств. Достоверная корреляция между длительностью заболевания, возрастом и выраженностью нарушений структуры нервного волокна по данным морфометрических коэффициентов отсутствовала, однако имелась общая тенденция к нарушению структуры НВР.

ВЫВОДЫ

1. Впервые на репрезентативном клиническом материале (1172 наблюдения) разработан оригинальный алгоритм объективной оценки НВР, детально проанализированы потенциальные структурные изменения НВР и клеток Лангерганса при различных офтальмологических, эндокринологических и неврологических заболеваниях.

2. На основе лазерной конфокальной микроскопии роговицы и апробированного авторского алгоритма разработаны классификация и критерии анализа структурных изменений НВР в зависимости от нарушения извитости нервных волокон, а также – от количества и особенностей клеток Лангерганса:

а) пограничными значениями, позволяющими относить испытуемого в «группу риска» по развитию структурных нарушений можно считать следующие: $K_{\Delta L} - 2,37-2,53$, $K_{sym} - 0,96-0,97$, общая длина основных НВР и их отростков – 41,2-47,40 мм/мм², плотность основных НВР и их отростков – 18- 20 волокон/мм², количество макрофагов – более 4, наличие микроневром – более 1;

б) к основным критериям оценки НВР при структурном их нарушении отнесены значения коэффициента анизотропии направленности, к дополнительным – значения общей длины основных НВР и их плотности. Дополнительно также учитывают значения коэффициента симметричности направленности НВР, количество макрофагов и микроневром.

в) для предварительного включения пациента в «группу риска» необходимо наличие как минимум одного основного и двух дополнительных критериев

3. «Работоспособность» разработанного алгоритма доказана на клинических моделях, связанных с различными элементами хирургического повреждения роговицы. Выявлены схожие черты повреждения и последующего структурного восстановления НВР:

а) после эксимерлазерной коррекции аномалий рефракции (*LASIK* и *femto-LASIK*) у всех пациентов наблюдалось постепенное восстановление иннервации, значение коэффициента анизотропии к сроку наблюдения 6 месяцев составило $2,04 \pm 0,38$ для *LASIK* и $2,03 \pm 0,33$ для *femto-LASIK*, длина и плотность НВР к данному сроку наблюдения также восстанавливались и составили $76,4 \pm 7,4$ мм/мм² и $6,1 \pm 1,2$ волокон/мм², соответственно.

б) после выполнения различных вариантов факохирургии имелась общая тенденция к восстановлению длины и плотности НВР, а также авторских коэффициентов в течение первых трех месяцев наблюдения (средние значения $K_{\Delta L} 2,39 \pm 0,54$).

в) после сквозной кератопластики количество и длина отростков клеток Лангерганса достоверно коррелировали с активностью воспалительной реакции, характеризующей отторжение трансплантата ($r=0,71, p<0,05$), при этом начальную иннервацию роговицы отмечали к 12 месяцам наблюдения.

4. Впервые на основе лазерной конфокальной микроскопии роговицы и разработанного алгоритма проанализированы изменения структуры НВР и клеток Лангерганса при различных офтальмологических заболеваниях:

а) при вирусных увеитах отмечены повышенная извитость НВР ($K_{AL} \leq 2,14$), увеличение размеров и числа отростков воспалительных макрофагов (количество макрофагов ≥ 8 в поле зрения);

б) к структурным изменениям нервных волокон, сопровождающим развитие ССГ, были отнесены следующие изменения: частичная извитость НВР, нарушение их хода, тенденция к уменьшению длины и плотности основных нервных стволов. Количество воспалительных макрофагов при этом значительно возрастало и в среднем составило $27,3 \pm 4,2$.

в) выявлена корреляционная связь средней силы коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР со стадией развития первичной открытоугольной глаукомы ($r=0,61, p<0,05$; $r=-0,59, p<0,05$,

соответственно); при этом определены отрицательные корреляции средней силы между показателями длины основных нервных волокон и их плотности с данными периметрии (*MD* и *PSD*) ($r=0,6$, $p<0,05$; $r=0,54$, $p<0,005$; $r=0,62$, $p<0,05$; $r=0,57$, $p<0,05$, соответственно), а также положительные – с показателями ОКТ ДЗН и сетчатки (*RNFL thickness*) ($r=0,62$, $p<0,05$; $r=0,59$, $p<0,05$, соответственно);

г) отмечены сильные корреляционные связи между степенью изменений НВР и длительностью ношения контактных линз ($r=0,74$, $p<0,05$).

5. Впервые на основе лазерной конфокальной микроскопии роговицы и разработанного алгоритма КМР проанализированы изменения структуры НВР при системных заболеваниях, сопровождающихся полинейропатией:

а) на фоне болезни Паркинсона установлено достоверное снижение коэффициента анизотропии направленности НВР и увеличение коэффициента симметричности направленности НВР (K_{AL} и K_{sym} составили $3,24\pm 2,1$ и $0,88\pm 0,1$, соответственно).

б) у пациентов с системным амилоидозом наблюдали общую тенденцию к нарушению извитости нервного волокна (K_{AL} и K_{sym} составили $2,75\pm 0,76$ и $0,93\pm 0,04$, соответственно).

в) при сахарном диабете отмечено достоверное уменьшение средних значений коэффициента анизотропии направленности НВР при менее выраженных изменениях коэффициента симметричности направленности НВР (K_{AL} и K_{sym} составили $2,4\pm 0,56$ и $0,93\pm 0,08$, соответственно). Изменения структуры НВР в виде увеличения их извитости и нарушения ориентированности хода происходят уже на ранней стадии диабетической полинейропатии.

г) у пациентов с постковидным синдромом были выявлены изменения длины и диаметра НВР, нарушения равномерности хода, «чёткообразность»

структуры нервного волокна. Кроме того, большая часть изменений структуры нервного волокна имела фрагментарный и обратимый характер повреждения.

6. На основании полученных результатов сформулированы практические рекомендации по использованию в клинической практике лазерной конфокальной микроскопии роговицы и разработанного алгоритма исследования НВР и клеток Лангерганса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для динамической оценки потенциальных нарушений иннервации роговицы рекомендуется использовать разработанную морфометрическую классификацию, включающую следующие структурные показатели: коэффициенты анизотропии направленности НВР и симметричности направленности НВР, длину и плотность основных нервных стволов, а также количество макрофагов и микроневром.

2. При коррекции аметропий с помощью контактных линз или методами эксимерлазерной хирургии необходимо учитывать потенциальную возможность изменения НВР.

3. После сквозной кератопластики активность клеток Лангерганса (увеличение количества и длины отростков) может быть использована в качестве маркера воспалительного ответа при развитии реакции отторжения трансплантата.

4. Увеличение извитости нервного волокна, выражаемое в снижении коэффициента анизотропии и обратно пропорциональном увеличении коэффициента симметричности направленности НВР на фоне увеличения количества воспалительных макрофагов, может выступать в качестве диагностического маркера воспаления увеального тракта герпесвирусной этиологии.

5. У пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, следует учитывать обратимость изменений структуры НВР, а также обращать внимание на то, что изменения структуры НВР могут быть фрагментарными.

6. Исследование НВР по разработанному алгоритму может быть включено в комплекс диагностики и мониторинга системных полинейропатий различного генеза.

7. При болезни Паркинсона необходимо учитывать не только показатели извитости НВР, но и наличие отложений и воспалительных макрофагов в субэпителиальных слоях роговицы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Аветисов С.Э., Сурнина З.В. Конфокальная микроскопия роговицы// **Вестник офтальмологии.** – 2023. – Т. 139. – № 3-2. – С. 38-45.

2. Ахмеджанова Л. Т., Захаров В. В., Дроздова Е. А., Джуккаева С. А., Исайкин А. И., Воскресенская О. Н., Сурнина З. В. Синдром Гийена–Барре, ассоциированный с SARS-CoV-2 (анализ клинических случаев) // **Медицинский алфавит. Неврология и психиатрия** – 2023. – Т. 1– № 2. – С. 22-28

3. Osidak E.O., Andreev A.Yu., Avetisov S.E., Voronin G.V., Surnina Z.V., Zhuravleva A.V., Grigoriev T.E., Krasheninnikov S.V., Sukhinich K.K., Zayratyants O.V., Domogatsky S.P. Corneal stroma regeneration with collagen – based hydrogel as an artificial stroma equivalent: a comprehensive in vivo study // **Polymers.** 2022. – Т. 14. – № 19. – С. 4017.

4. Аветисов С.Э., Воронин Г.В., Суханова Е.В., Сурнина З.В., Нарбут М.Н., Кобзева А.В., Иванова М.А. Клинико-морфологические характеристики эпителиальной дистрофии роговицы (клинические наблюдения) // **Вестник офтальмологии.** – 2022. – Т. 138. – № 5. – С. 99-110.

5. Сурнина З.В., Андреев А.Ю., Шарнина Д.А., Юсеф С.Н. Структура нервных волокон после различных вариантов пересадки роговицы // **Вестник офтальмологии.** – 2022. – Т. 138. – № 5-2. – С. 260-265.
6. Фокина А.С., Зилов А.В., Строков И.А., Демура Т.А., Сурнина З.В., Фадеев В.В. Анализ влияния длительной нормализации гликемического контроля на течение субклинической диабетической периферической нейропатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // **РМЖ.** – 2022. – Т. 30 – №3. – С. 28-33.
7. Каспарова Е.А., Марченко Н.Р., Нарбут М.Н., Сурнина З.В., Криволапова Д.А. Острый гнойный кератит смешанной этиологии, развившийся на фоне ношения контактных линз. Клинический случай // **Офтальмология.** 2022. – Т. 19. – № 4. – С. 898-905.
8. Аветисов С.Э., Иллариошкин С.Н., Сурнина З.В., Георгиев С., Москаленко А.Н. Возможности нейровизуализационных маркеров в диагностике болезни Паркинсона // **Якутский медицинский журнал.** 2022. –Т.2. –№ 78. – С. 92-95
9. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Аветисов К.С., Ндари М., Георгиев О., Луцкан И.П. Состояние нервных волокон роговицы после экстракапсулярной экстракции катаракты // **Якутский медицинский журнал.** 2022. –4. – №80. – С.30-32.
10. Сафиулина Э.И., Зиновьева О.Е., Щеглова Н.С., Рамеев В.В., Сурнина З.В., Никитина Е.Н., Воробьева О.А. Лептоменингеальный амилоидоз: особенности клинической картины (клиническое наблюдение) // **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.** 2022. – Т. 14. – №6. –С. 67-72.
11. Сурнина З.В., Суханова Е.В., Гамидов А.А. Клиническая манифестация эпителиальной дистрофии роговицы после LASIK // **Медицинский совет.** 2022. – Т. 16. – № 23. – С. 275-283.

12. Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Сурнина З.В., Аверич В.В., Саркисова К.Г. Изменение структуры роговицы после применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе // **Медицинский совет**. 2022. – Т. 16. – №6. – С. 226-233.
13. Сурнина З.В., Карпилова М.А. Ход и структура нервных волокон роговицы у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // **Национальный журнал глаукома**. 2022. – Т. 21. – №3. –С. 11-17.
14. Сурнина З.В. Методы и клиническое значение оценки состояния нервных волокон роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2021; 137(2): 108-113.
15. Аветисов С.Э., Тюрина А.А., Сурнина З.В. Состояние нервных волокон роговицы после лазерного кератомилеза *in situ* // **Вестник офтальмологии**. 2021. – Т. 137. – № 3. – С. 39-48.
16. Сурнина З.В., Аверич В.В. Количественная оценка структурных изменений роговицы на фоне длительного ношения контактных линз по результатам конфокальной микроскопии // **Медицинский совет**. 2023.–Т.17– №3. –С. –6-11.
17. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Ахмеджанова Л.Т., Георгиев С. Первые результаты клинико-диагностического анализа постковидной периферической невропатии // **Вестник офтальмологии**. 2021. – Т.137. – №4. – С. 58-64.
18. Каспарова Е.А., Марченко Н.Р., Сурнина З.В., Митичкина Т.С. Возможности конфокальной микроскопии в диагностике акантамебного кератита // **Вестник офтальмологии**. 2021. – Т. 137. – №5-2. – С. 201-208.
19. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Зиновьева О.Е., Сафиулина Э.И., Щеглова Н.С., Носовский А.М. Состояние нервных волокон роговицы при системном амилоидозе // **Вестник офтальмологии**. 2021. – Т. 137. – №5-2. –С. 231-237.
20. Зиновьева О.Е., Сафиулина Э.И., Щеглова Н.С., Сурнина З.В., Носовский А.М. Вопросы диагностики периферической амилоидной невропатии

// **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.** 2021. – Т.13.– №5. –С. 56-61.

21. Крахмалева Д.А., Сурнина З.В., Маложен С.А., Гамидов А.А. Гистоморфологическая картина роговицы по данным лазерной конфокальной микроскопии при кератопластике // **Медицинский совет.** 2021. – Т. 21. – №2. – С. 110-117.

22. Еричев В.П., Сурнина З.В., Абдуллаева Э.Х. Состояние нервных волокон роговицы у пациентов с глаукомой, перенесших коронавирусную инфекцию // **Национальный журнал глаукома.** 2021. –Т. 20– №4. –С.17-25.

23. Аветисов С.Э., Сурнина З.В. Изменение нервных волокон роговицы при болезни Паркинсона // **Точка зрения. Восток - Запад.** 2021. –№1. – С.17-20.

24. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Гамидов А.А., Велиева И.А. Состояние нервных волокон роговицы после факохирургии // **Точка зрения. Восток - Запад.** 2021. – №2. – С. 16-18.

25. Аветисов С.Э., Страхов В.В., Сурнина З.В., Попова А.А., Гамидов А.А. Изменение клеток Лангерганса и структуры нервных волокон роговицы у пациентов с глаукомой по данным лазерной конфокальной микроскопии // **Точка зрения. Восток - Запад.** 2021. – № 3. – С. 30-32.

26. Аветисов К.С., Юсеф Н.Ю., Сурнина З.В., Аветисов С.Э., Ндари М. Изменения нервных волокон роговицы после микроинвазивной факохирургии (предварительное сообщение) // **Вестник офтальмологии.** 2020. – Т.136. – №2. –С. 6-12

27. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Новиков И.А., Черненкова Н.А., Тюрина А.А. Влияние слезной пленки на результаты прямой оценки чувствительности роговицы // **Вестник офтальмологии.** 2020. –Т.136. – №. 2. – С. 81-85

28. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В., Ахмеджанова Л.Т., Фокина А.С., Строков И.А. Возможности ранней диагностики диабетической

полинейропатии на основе исследования нервных волокон роговицы // **Вестник офтальмологии**. 2020. – Т. 136. – №5-2. – С. 155-162.

29. Аветисов С.Э., Карабанов А.В., Сурнина З.В., Гамидов А.А. Изменения нервных волокон роговицы на ранних стадиях болезни Паркинсона по данным лазерной конфокальной микроскопии (предварительное сообщение) // **Вестник офтальмологии**. 2020. – Т.136. – №5-2. –С.191-196

30. Бубнова И.А., Сурнина З.В., Аверич В.В., Саркисова К.Г. Влияние кросслинкинга роговичного коллагена на структуру роговицы при кератоконусе // **Вестник офтальмологии**. 2020. – Т. 136. – №5-2. – С. 268-276.

31. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Аветисов К.С., Ндари М. Влияние факохирургии на состояние нервных волокон роговицы // **Вестник офтальмологии**. 2020. – Т. 136. – №5. –С. 283-288.

32. Сафиулина Э.И., Щеглова Н.С., Сурнина З.В. Поражение периферической нервной системы при первичном AL-и наследственном TTR-амилоидозе // **Медицинский алфавит**. 2020. – №1. – С. 51-52.

33. Сафонова Т.Н., Сурнина З.В., Зайцева Г.В. Сравнительная характеристика осмолярности, слезопродукции и состояния эпителия роговицы после инстилляций препаратов Визомитин и гипромеллозы // **Медицинский совет**. 2020. – № 21. – С. 249-255.

34. Сурнина З.В., Аветисов С.Э., Черненкова Н.А. Исследование нервных волокон роговицы в ранней диагностике диабетической полинейропатии // **Современные технологии в офтальмологии**. 2020. – №4(35). – С. 107-108.

35. Тюрина А.А., Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Суханова Е.В. Изменение нервных волокон роговицы после лазерной кераторефракционной коррекции миопии // **Современные технологии в офтальмологии**. 2020. – Т. 4. – №35. – С. 110-111.

36. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В., Ахмеджанова Л.Т., Фокина А.С., Строков И.А. Диагностика диабетической полинейропатии на основе исследования нервных волокон роговицы // Точка зрения. Восток - Запад. 2020. – №3. – С.16-18.

37. Аветисов С.Э., Тюрина А.А., Сурнина З.В. Состояние нервных волокон роговицы после лазерных кераторефракционных операций // **Вестник офтальмологии**. 201. –Т. 135. – №1. – С. 112-116.

38. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Троицкая Н.А., Патеюк Л.С., Велиева И.А., Гамидов А.А., Сидамонидзе А.Л. Результаты лазерной конфокальной микроскопии роговицы при вирусных увеитах (предварительное сообщение) // **Вестник офтальмологии**. 2019. – Т.135. – №1. – С. 53-58.

39. Труфанов С.В., Текеева Л.Ю., Сурнина З.В., Маложен С.А. Морфологические изменения роговицы при синдроме рецидивирующей эрозии после шлифовки боуменовой мембраны алмазным бором // **Вестник офтальмологии**. 2019. – Т. 135. – №5. – С. 24-30.

40. Аветисов С.Э., Тюрина А.А., Сурнина З.В., Довгилева О.М., Суханова Е.В. Морфометрический анализ состояния нервных волокон роговицы после лазерной коррекции миопии // **Офтальмология**. 2019. – Т. 16. – №S1. – С. 27-32.

41. Попова А.А., Страхов В.В., Мурашов А.А., Ширина Н.Ю., Сурнина З.В., Малахова А.И., Климова О.Н. Количественная характеристика клеток Лангерганса в слое нервных волокон роговицы при первичной открытоугольной глаукоме // **Национальный журнал глаукома**. 2019. – Т.18. – №2. – С. 47-59.

42. Зиновьева О.Е., Сафиулина Э.И., Щеглова Н.С., Рамеев В.В., Сурнина З.В., Степанова Е.А., Гордеева Е.М. Наследственный транстиретиновый амилоидоз: новая выявленная амилоидогенная мутация // **Эффективная фармакотерапия**. 2019. – Т.15. – №14. – С. 12-17.

43. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В., Фокина А.С. Автоматизированный морфометрический анализ состояния нервов роговицы на основе метода конфокальной микроскопии в диагностике диабетической полинейропатии (предварительное сообщение) // Точка зрения. Восток - Запад. 2019. – №1. – С. 9-11.

44. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В. Анатомо-функциональные особенности и методы исследования нервных волокон роговицы // **Вестник офтальмологии**. 2018. – Т. 134. – №6. – С. 102-106.

45. Аветисов С.Э., Сдобникова С.В., Сурнина З.В., Троицкая Н.А., Патеюк Л.С., Велиева И.А., Гамидов А.А., Сидамонидзе А.Л. Увеиты невыясненной этиологии: новые возможности в диагностике (предварительное сообщение) // Точка зрения. Восток - Запад. 2018. – №4. – С. 8-9.

46. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В. Клинические особенности и диагностика диабетической полинейропатии // **Вестник офтальмологии**. 2017. – Т. 133. – №5. – С. 98-102.

47. Страхов В.В., Сурнина З.В., Малахова А.И., Климова О.Н., Попова А.А. Дегенеративные изменения в слое нервных волокон роговицы у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // **Национальный журнал глаукома**. 2017. – Т. 16. – №4. – С. 52-68.

48. Аветисов С.Э., Сурнина З.В. Возможности лазерной конфокальной микроскопии в диагностике рецидивирующей эрозии роговицы, воспалительных заболеваний глаза и диабетической полинейропатии // Точка зрения. Восток - Запад. 2017. – №. 1. – С.10-13.

49. Сдобникова С.В., Троицкая Н.А., Сурнина З.В., Патеюк Л.С. Общие и офтальмологические проявления герпесвирусных инфекций // **Офтальмология**. 2016. Т. 13. – №4. – С. 228-234.

Список изобретений по теме диссертации:

1. Аветисов С.Э., Воронин Г.В., Маложен С.А., Крахмалева Д.А., Сурнина З.В., Гамидов А.А. Способ ранней диагностики реакции отторжения трансплантата роговицы после сквозной кератопластики Патент на изобретение №2770780 С1, 21.04.2022.

2. Аветисов С.Э., Еричев В.П., Гамидов А.А., Абдуллаева Э.Х., Карпилова М.А., Сурнина З.В. Способ диагностики начальных проявлений первичной открытоугольной глаукомы. Патент на изобретение №2778966 С1, 29.08.2022.

3. Аветисов С.Э., Тюрина А.А., Сурнина З.В. Способ прогнозирования риска осложнений лазерного кераторефракционного вмешательства у пациентов с сахарным диабетом 1 типа. Патент на изобретение №2724281 С1, 22.06.2020.

Список сокращений:

$K_{\Delta L}$ – коэффициент анизотропии направленности НВР

K_{sym} – коэффициент симметричности направленности

НВР – нервные волокна роговицы

КМР – конфокальная микроскопия роговицы

МКЛ – мягкие контактные линзы

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПО – программное обеспечение

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

ПНП – полинейропатия

СД – сахарный диабет

ССГ – синдром сухого глаза

ФЭ – факоемульсификация

ЭНМГ – электронейромиография