

М.А. Степанова<sup>1</sup>, Е.Н. Архипова<sup>2</sup>, Ю.С. Медведева<sup>2</sup>, М.Ю. Карганов<sup>2</sup>, Э.Н. Эскина<sup>3</sup>

## ***Роль изменений субфракционного состава слезной жидкости в оценке повреждающего действия мягких контактных линз и эксимерлазерной абляции роговицы при коррекции аметропий***

<sup>1</sup> Институт усовершенствования врачей НМХЦ им. Н.И. Пирогова, 105203 Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 65

<sup>2</sup> ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8

<sup>3</sup> Офтальмологическая клиника «Сфера» профессора Э.Н. Эскиной, 117628 Москва ул. Старокачаловская д. 10

*Методом лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) проведено исследование изменений субфракционного состава слезной жидкости (СЖ) на фоне длительного ношения мягких контактных линз (МКЛ) и при проведении эксимерлазерной коррекции аметропии методом Трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомии (Транс ФРК). На основании анализа биологического материала, полученного у 141 пациента в возрасте от 18 до 33 лет можно сделать вывод, что длительное использование мягких контактных линз приводит к катаболическим процессам в поверхностных структурах глаза и, как следствие, к изменению качественного состава слезной жидкости. После Трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомии происходит увеличение количества низкомолекулярных фракций и частиц среднего радиуса, что характеризует течение репаративных процессов после абляции роговицы. Исходя из результатов нашего исследования, можно сделать заключение о том, что лазерная корреляционная спектроскопия — это экспрессный анализ, с помощью которого можно диагностировать и наблюдать начальные изменения метаболизма в переднем отрезке глаза, когда объективных клинических проявлений еще нет.*

**Ключевые слова:** лазерная корреляционная спектроскопия, слезная жидкость, трансэпителиальная фоторефракционная кератэктомия, роговица, контактные линзы

М.А. Stepanova<sup>1</sup>, E.N. Arkhipova<sup>2</sup>, Yu.S. Medvedeva<sup>2</sup>, M.Yu. Karganov<sup>2</sup>, E.N. Eskina<sup>3</sup>

## ***The role of changes in the subfractional compound of tear fluid in the assessment of damaging effect from soft contact lenses and the excimer laser ablation of the cornea***

N.I. Pirogov NMSC Institute for Professional development, 105203 Moscow, Nizhnyaya Pervomayskaya st., 65

<sup>2</sup> Research Institute of General pathology and pathophysiology, 125315, Moscow, Baltiyskaya st., 8

<sup>3</sup> Ophthalmologic clinic «Sphere» by professor E.N. Eskina, 117628, Moscow, Starokachalovskaya st., 10

*The method of laser correlation spectroscopy (LCS) was used for the examination of the subfractional compound of tear fluid in patients who have been using soft contact lens (SCL) for a long period and before and after the excimer laser correction with transepithelial photorefractive keratectomy (Trans PRK). Based on the analysis of biological material of 141 patients aged from 18 to 33 years old, we can conclude that prolonged usage of SCL leads to catabolic processes in surface of the anterior segment of the eye and, as a result, to changes in the qualitative composition of the tear fluid. The amount of low molecular weight fractions and medium weight ingredients increases after transepithelial photorefractive keratectomy, which can characterize reparation processes after cornea ablation. Based on the results of our study we can conclude that LCS — is express analysis, with which we can diagnose and observe the initial changes in local metabolism in the anterior segment of the eye, when the objective breaches have not seen yet.*

**Key words:** laser correlation spectroscopy, tear fluid, contact lenses, the cornea, Trans PRK

Существующие нехирургические методы коррекции аметропии — очковая или контактная коррекция не всегда хорошо переносятся и удобны для пациентов. Помимо невозможности использовать мягкие контактные линзы существует определенный риск осложнений данного вида контактной коррекции. Не-

достатками использования МКЛ являются гипоксия, отек роговицы, повреждение эпителия, а также вероятностные осложнения: поверхностный кератит, микроцисты, эрозии, язвы роговицы, неоваскуляризация, токсико-аллергические реакции, инфекционные заболевания глаз, синдром «сухого глаза». Данные

осложнения применения МКЛ приводят к различным изменениям состава слезной жидкости [8, 11]. Методика Транс ФРК в современной модификации широко известна в мировой офтальмологической практике и зарекомендовала себя как безопасный и малотравматичный способ коррекции высоких аметропий, обеспечивающий хороший рефракционный результат, что позволяет расширить показания к применению данной методики в практике рефракционных хирургов [13]. Однако вопрос прогнозирования и интерпретации таких редких осложнений Транс ФРК, как длительная эпителизация, хейз и регресс рефракционного эффекта, остается чрезвычайно актуальным. В настоящем исследовании для решения поставленных задач был использован метод лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС), который ранее был успешно применен для оценки тяжести заболевания и эффективности лечения различных заболеваний, в том числе и глазных [1-6, 10, 12].

### Методика

Пациенты, участвующие в исследованиях, находились на амбулаторном лечении и продолжают наблюдаться на базе офтальмологической клиники «Сфера». Биологический материал забирали с согласия испытуемых.

У всех обследуемых были взяты образцы слезной жидкости посредством получения смывов с глаз 0,9% раствором хлорида натрия 0,5 мл. Образцы замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  на срок не более 5 суток, в течение которого проводился их анализ методом ЛКС.

Лазерная корреляционная спектроскопия позволяет определять субфракционный состав биоингредиентов в довольно широком диапазоне их молекулярных размеров (от 1 до 10 000 нм). Физическая сторона данного метода основана на принципах доплеровской спектроскопии [7].

Непосредственно перед измерением собранный материал размораживали и центрифугировали 15 минут 3000 об/мин для получения прозрачного супернатанта.

Субфракционный состав биологических жидкостей регистрировали, используя лазерный корреляционный спектрометр ЛКС-03-«ИНТОКС», собранный в лаборатории молекулярной и радиационной биофизики Санкт-Петербургского института ядерной физики РАН и утвержденный комитетом по новой медицинской технике МЗ РФ для определения размеров микрочастиц в биологических жидкостях (Сертификат RU.C. 39.003.A N 5381). Подробные ЛК-гистограммы, сформированные управляющей программой спектрометра, состоят из 32 точек. Количество столбцов отражает число учитываемых субфракций молекул при обработке (минимизации) спектра.

Операция проводилась на эксимерлазерной установке последнего поколения, уникальной в своем классе оборудования, SchwindAmaris® 500E с частотой импульсов 500 Гц, со специальным алгоритмом распределения «летающего пятна» и системой «Интеллектуального контроля температуры роговицы», что позволяет снизить повреждение роговицы при абляции до минимального, снизить риски осложнений и повысить эффективность рефракционного эффекта после Транс ФРК.

Проводимые исследования состояли из нескольких этапов. Всего нами было обследовано 141 чел. в возрасте от 18 до 33 лет, неотягощенных хроническими соматическими заболеваниями. Для контроля в различные этапы использовали пробы СЖ 28 чел. (56 глаз) с эметропией, без офтальмопатологии, возраст обследуемых составил от 19-26 лет. Из них 12 мужчин, 16 женщин.

*Задача первого этапа исследования:* оценить изменения субфракционного состава слезной жидкости под воздействием длительного ношения контактных линз. Было проведено исследование, в котором участвовали 29 пациентов (58 глаз). Отбор в группу исследования осуществлялся по следующим критериям: использование МКЛ от 1,5 года до 12 лет, миопия средней и высокой степени, отсутствие сопутствующей соматической патологии. Возраст обследуемых составил от 18 до 33 лет (средний возраст 27,6 лет). Лица данной группы не имели никакой сопутствующей офтальмопатологии, не инстиллировали препараты в конъюнктивальную полость.

*Задача второго этапа исследования:* влияние срока ношения контактных линз (КЛ) на изменение субфракционного состава слезной жидкости.

Отбор в группу исследования осуществлялся по следующим критериям: использование МКЛ от 1,5 года до 12 лет, миопия средней и высокой степени, отсутствие сопутствующей соматической патологии.

Пациенты были разделены на 2 подгруппы. В первую подгруппу вошли пациенты, которые используют МКЛ в качестве контактной коррекции зрения на протяжении от 1,5 до 5 лет. Во вторую подгруппу вошли пациенты, пользующиеся МКЛ в качестве контактной коррекции зрения в течение 6—12 лет. Данные пациенты также не имели никакой сопутствующей офтальмопатологии, не инстиллировали препараты в конъюнктивальную полость.

*Задача третьего этапа:* оценить влияние Транс ФРК на изменение состава слезной жидкости в различные сроки. Пробы СЖ отбирали на 1-й день и 3-й месяц после операции. У всех пациентов сроки эпителизации были ориентировочно одинаковыми и составляли 3—4 дня. У всех пациентов заключитель-

ного этапа исследования послеоперационный период протекал стандартно: полная эпителизация роговицы на 3 сутки, в отдаленном послеоперационном периоде каких-либо осложнений (помутнения роговицы, субэпителиальная фиброплазия) не выявлено. Группа исследования включала 26 чел. (52 глаза) с миопией средней и высокой степени, в возрасте от 20 до 30 лет. Отбор в группу исследования осуществлялся

по следующим критериям: использование МКЛ от 1 года ( $6 \pm 1,3$  лет), проведение операции в стандартных условиях, миопия средней и высокой степени, у пациентов группы исследования проводилось взятие смывов СЖ до операции, в 1-й день и через 3 мес. после операции, КЛ были сняты не менее чем за 14 дней до операции, отсутствие сопутствующей соматической патологии.

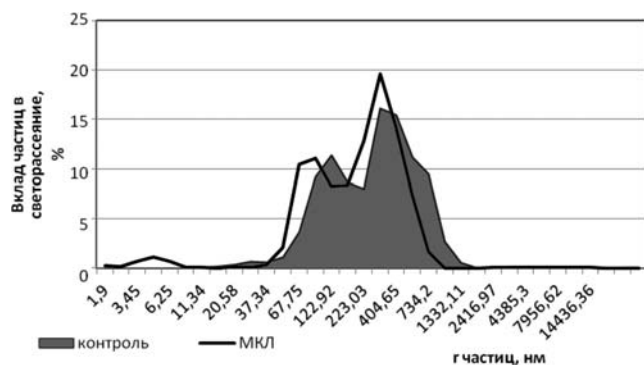


Рис. 1. Показатели слезной жидкости пациентов, использующих МКЛ, и пациентов с эмметропией. По оси абсцисс — радиус частиц (нм). По оси ординат — вклад частиц в светорассеяние (%).

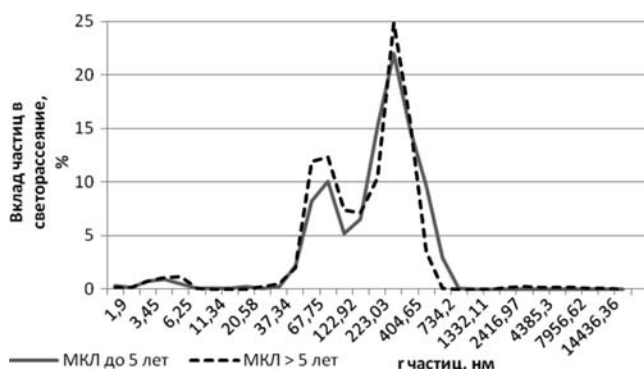


Рис. 2. Показатели слезной жидкости пациентов, использующих МКЛ на протяжении до 5 лет, показатели слезной жидкости пациентов, пользующихся МКЛ более 5 лет. По оси абсцисс — радиус частиц (нм). По оси ординат — вклад частиц в светорассеяние (%).

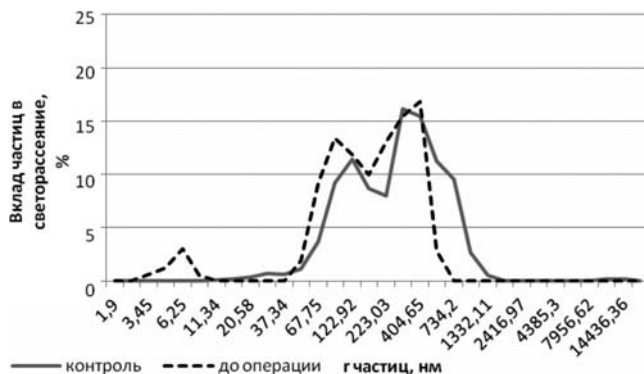


Рис. 3. Показатели СЖ пациентов до операции, использующих МКЛ, и пациентов с эмметропией. По оси абсцисс — радиус частиц (нм). По оси ординат — вклад частиц в светорассеяние (%).

### Результаты и обсуждение

В ходе проведения первого этапа исследования было выявлено, что у пациентов, использующих МКЛ, наблюдается относительно высокий процентный вклад в светорассеяние (15—20%) среднемoleкулярных ингредиентов, к которым могут быть отнесены глико-липопротеиновые комплексы (частицы радиусом от 200 до 600 нм) (рис. 1), а также снижение процентного вклада в светорассеяние высокомолекулярных частиц радиусом от 600 до 2000 нм (крупные глико-липопротеиновые и иммунные комплексы (10%).

По результатам второго этапа проводимых исследований, нами выявлен относительно высокий процентный вклад в светорассеяние (10—13%) низкомолекулярных фракций (радиус частиц 60—200 нм, альбумины и глобулины) (рис. 2).

Кроме того, в пробах пациентов с более длительным режимом использования МКЛ наблюдается повышение процентного вклада в светорассеяние (23—25%) среднемoleкулярных ингредиентов радиусом от 200 до 600 нм (глико-липопротеины).

При оценке результатов третьего этапа нами был получен усредненный спектр СЖ пациентов контрольной группы и группы пациентов до операции. Для него характерно увеличение числа мелких частиц радиусом 90—160 нм и комплексов среднего радиуса (220—400 нм) у группы пациентов до операции (рис. 3). Спектр СЖ пациентов до операции совпадает с таковым спектром пациентов, использующих МКЛ, это обусловлено тем, что в группу обследуемых до операции вошли пациенты с длительным стажем использования МКЛ в качестве контактной коррекции имеющийся аметропии.

В ходе исследования пациентов через сутки после операции нами выявлено смещение спектра СЖ относительно такового до операции в сторону образования крупных, предположительно глико-липопротеиновых фракций радиусом 600—730 нм (рис. 4).

Общая картина спектра СЖ через 3 месяца после операции отличается от спектра, полученного до операции, а также от спектра контрольной группы. Как видно из рис. 5, в пробах СЖ пациентов в данный срок наблюдается преобладание фракций радиусом 90—200 нм.

Результаты анализа ЛК-спектров, полученных в ходе первого этапа исследований, показали, что у пациентов, использующих мягкие контактные линзы, в слезной жидкости преобладают глико-липопротеиновые комплексы и относительно повышено по сравнению с контрольной группой содержание иммунных комплексов, что позволяет предположить нарастание воспалительной интоксикации в тканях глаза, в том числе роговице, под воздействием ношения МКЛ.

Исходя из полученных данных второго этапа исследования, нами было установлено незначительное увеличение альбуминовых и глобулиновых фракций у группы пациентов, использующих мягкие контактные линзы в течение длительного срока, по сравнению с группой пациентов с менее длительным сроком использования МКЛ, что свидетельствует о тенденции к катаболическим процессам, которые могут быть вызваны повышением активности гидролаз и обусловлены хронической травматизацией поверхностных структур глаза мягкой контактной линзой и длительным стажем ее ношения. Помимо этого, в спектрах обеих групп выявлен высокий процентный вклад глико-липопротеиновых фракций, что подтверждает результаты первого этапа исследования.

В смывах СЖ у группы пациентов в 1-е сутки после операции в отличие от проб СЖ до операции незначительно увеличено количество глико-липопротеиновых фракций. Это позволило предположить тенденцию к катаболическим процессам, которые могут быть вызваны повреждающим воздействием лазера непосредственно на коллагеновые волокна роговицы, разрушенные во время абляции, мелкие фрагменты которых и дают данное преобладание в спектрах СЖ.

В сроки 3 месяца после операции было выявлено увеличение количества мелких частиц СЖ по сравнению с группой контроля, которое может быть обусловлено наличием белковых ингредиентов, таких, как альбумины, глобулины, факторы роста и цитокины белковой природы, в том числе описанный активно вырабатываемый после эксимерлазерной абляции роговицы трансформирующий ростовой фактор-β (ТРФ-бета). Присутствие данных фракций в 1-е сутки после операции и в срок 3 мес. после операции предположительно характеризуют активность репаративных процессов после абляции роговицы. Полученные данные позволяют определить характерные изменения субфракционного состава СЖ для нормального течения репаративных процессов после Транс ФРК.

Исходя из проведенных нами исследований, можно сделать вывод о том, что ношение МКЛ приводит к изменению субфракционного состава СЖ, а увеличение режима использования данного вида контак-

ной коррекции приводит к увеличению процентного вклада низкомолекулярных частиц и молекул среднего радиуса.

Трансэпителиальная фоторефракционная кератэктомия оказывает непосредственное влияние на поверхностные структуры глаза, что приводит к характерным изменениям субфракционного состава слезной жидкости. Определенные нами характерные для нормального течения послеоперационного периода Транс ФРК изменения субфракционного состава слезной жидкости, в дальнейшем могут быть использованы для мониторинга течения послеоперационного периода.

Лазерная корреляционная спектроскопия является оригинальной методикой, с помощью которой возможно на ранних сроках диагностировать начальные изменения в переднем отрезке глаза, когда объективных осложнений еще нет. Кроме этого, в дальнейшем результаты настоящего исследования могут быть использованы для скринингового мониторинга и прогнозирования течения послеоперационного процесса при поверхностных абляциях роговицы.

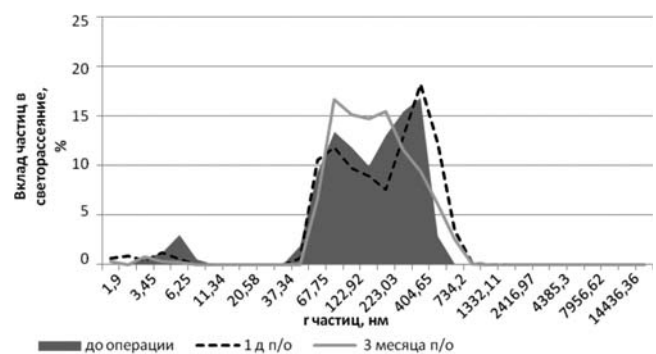


Рис. 4. Показатели СЖ пациентов группы контроля в первый день после операции и в срок 3 месяца. По оси абсцисс — радиус частиц (нм). По оси ординат — вклад частиц в светорассеяние (%).

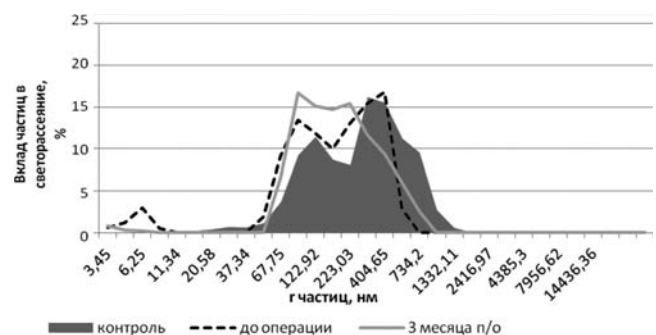


Рис. 5. Показатели СЖ пациентов группы контроля, до операции и в срок 3 месяца после операции. По оси абсцисс — радиус частиц (нм). По оси ординат — вклад частиц в светорассеяние (%).



## Список литературы

1. *Архипова Е.Н., Дедаев С.И., Алчинова И.Б.* и др. Исследование взаимодействия наночастиц диоксида титана и сыворотки крови больных аутоиммунными заболеваниями // Патогенез. 2011. Т. 9. №1. С. 67-70.
2. *Карганов М.Ю., Ковалева О.И., Санадзе А.Г.* и др. Сравнительный анализ информативности радиоиммунологического исследования и лазерной корреляционной спектроскопии при миастении и миастенических синдромах // Неврологический журнал. 2003. Т. 8. №S1. С. 26-29.
3. *Ковалев И.Е., Карганов М.Ю., Румянцева Е.И., Ковалева О.И.* Лазерная корреляционная спектроскопия как эффективный метод выявления ДНК-содержащих и других макромолекулярных комплексов в сыворотке крови больных сахарным диабетом // Доклады Академии наук. 2002. Т. 386. №5. С. 693-695.
4. *Ковалева О.И., Карганов М.Ю., Ковалева Л.Г., Горбунова Н.А.* Новые возможности ранней диагностики заболеваний системы крови // Гематология и трансфузиология. 2004. Т. 49. №4. С. 7-9.
5. Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / Бажора Ю. И., Носкин Л. А., Изд.: Одесса. 2002, 397 с.
6. Полисистемный саногенетический мониторинг / Карганов М.Ю., Киселев М.Ф., Комаров Г.Д. и др., Москва, МИПКРО, 2001. 344 с.
7. Применение комплексного анализа слезной жидкости при контактной коррекции зрения после фото-рефракционных операций / Емелина В.Г., М. 2007, 127 с.
8. Роговично-конъюнктивальный кератит / Брже-ский В.В., Сомов Е.Е., С.-П., 2003, С.18-22.
9. *Степанова М.А., Архипова Е.Н., Медведева Ю.С.* и др. Оценка метаболизма органа зрения в связи с длительным использованием мягких контактных линз // Материалы научной конференции «XII Всероссийская школа офтальмолога». Научная конференция. — М. — 2013, С. 395-399.
10. *Хлебникова Н.Н., Таршиц Д.Л., Карганов М.Ю.* Перспективы применения метода лазерной корреляционной спектроскопии слезной жидкости в диагностике тяжести патологического процесса при консервативных и оперативных методах лечения глазных болезней // Лазерная медицина. 1999. №3-4. С. 25-31.
11. *Эскина Э.Н., Рябенко О.И., Юшкова И.С.* и др. Оценка результатов транспителлиальной фоторефракционной кератэктомии (ФРК) в коррекции миопии высокой степени (6 месяцев наблюдения) // Практическая медицина — 2012. — Т. 1, N 4(59). — С. 59-60.
12. *Karganov M., Skalny A., Alchinova I.* et al. Combined use of laser correlation spectroscopy and ICP-AES, ICP-MS determination of macro- and trace elements in human biosubstrates for intoxication risk assessment // Trace elements and electrolytes. — 2011. — Vol. 28, №2. — P. 124 — 127.
13. *Karganov M., Alchinova I., Arkhipova E., Skalny A.* Laser Correlation Spectroscopy: Nutritional, Ecological and Toxic Aspects // «Biophysics». A.N. Misra ed. — InTech, Rijeka, Croatia, 2012. — P. 1-16.

Поступила 16.12.13

## Сведения об авторах:

*Мария Анатольевна Степанова*, клинический ординатор Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова, врач-ординатор клиники лазерной медицины «Сфера»

*Елена Николаевна Архипова*, к.б.н.; старший науч. сотр. лаборатории полисистемных исследований ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Юлия Сергеевна Медведева*, мл. науч. сотр. лаборатории полисистемных исследований ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Михаил Юрьевич Карганов*, д.б.н., профессор; заведующий лабораторией полисистемных исследований ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

*Эрика Наумовна Эскина*, д.м.н., профессор, главный врач клиники лазерной медицины «Сфера»