

Количественная характеристика клеток Лангерганса в слое нервных волокон роговицы при первичной открытоугольной глаукоме

Попова А.А., врач-офтальмолог¹;

Страхов В.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой глазных болезней²;

Мурашов А.А., д.т.н.³;

Ширина Н.Ю., к.т.н.²;

Сурнина З.В., к.м.н., врач-офтальмолог⁴;

Малахова А.И., к.м.н., врач-офтальмолог⁵;

Климова О.Н., к.м.н., врач-офтальмолог².

¹ООО «Офтакит», 150040, Российская Федерация, Ярославль, ул. Свободы, д. 42;

²ГБОУ ВПО Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России, 150000, Российская Федерация, Ярославль, ул. Революционная, д. 5;

³Ярославское высшее военное училище противовоздушной обороны, 150001, Российская Федерация, Ярославль, Московский просп., д. 28;

⁴НИИ ГБ РАМН, 119021, Российская Федерация, Москва, ул. Россолимо, 11 А, Б;

⁵ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница», 214000, Российская Федерация, Смоленск, пр. Гагарина, д. 27.

Авторы не получали финансирование при проведении исследования и написании статьи. Конфликт интересов: отсутствует.

Для цитирования: 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; 18(2):47-59.

Резюме

ЦЕЛЬ. Оценить количество клеток Лангерганса (КЛ) в роговице при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) в различных стадиях заболевания.

МЕТОДЫ. В исследование вошли 129 пациентов. Основная группа — 102 пациента (204 глаза) в возрасте от 42 до 83 лет ($62,5 \pm 2,4$ года) — с диагнозом ПОУГ I-IV стадий. Контрольная группа — 27 пациентов (54 глаза) — офтальмологически здоровые добровольцы в возрасте от 54 до 76 лет ($65,9 \pm 1,4$ года) с нормальным уровнем внутриглазного давления (ВГД) и без признаков ПОУГ. Были проведены: визометрия, биомикроскопия переднего отрезка глаза, офтальмоскопия, гониоскопия, контактная тонометрия по методу Pascal, оптическая когерентная томография (ОКТ) дисков зрительных нервов (Zeiss Stratus 3000) и конфокальная микроскопия роговицы (КМР) (HRT III, с Rostock Cornea Modul).

РЕЗУЛЬТАТЫ. При ПОУГ среднее количество КЛ оказалось выше, чем в группе нормы, и составило 144 ± 21 кл./мм², что достоверно отличается от группы нормы ($p=0,0002$). Обнаружено возрастание количества КЛ по мере развития заболевания, увеличение количества КЛ от начальной глаукомы к терминальной. Выявлены достоверная положительная связь количества КЛ в слое суббазальных нервных волокон (НВР) со стадией заболевания ($R=0,23$, $p<0,05$), достоверная отрицательная корреля-

ционная связь с коэффициентом анизотропии направленности НВР в группе ПОУГ ($R=-0,29$, $p<0,001$). Исследована межочулярная асимметрия посредством вычисления показателя межочулярной асимметрии (ПМА). ПМА количества КЛ в слое НВР тем выше, чем больше расхождение по стадиям ПОУГ между парными глазами. При значении ПМА КЛ 19,68% чувствительность и специфичность предлагаемого показателя для диагностики ПОУГ составили 94,1 и 66,6% соответственно. Таким образом, значения ПМА КЛ выше 19,68% принимаются как патологические.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Обнаруженное увеличение количества КЛ в слое НВР указывает на присутствие воспалительного процесса в глазу, который вполне может быть аутоиммунным. И может претендовать на первопричинность открытоугольной глаукомы, приводить к патологической глаукомной склеропатии с повреждением дренажного аппарата глаза и соответствующим повышением ВГД, а также диктовать характерное клиническое течение в виде хронического двухстороннего вялотекущего процесса. В этом смысле нейродегенеративные процессы в переднем и заднем сегментах глаза патогенетически едины.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глаукома, конфокальная микроскопия, клетки Лангерганса, ОКТ.

Для контактов:

Попова Анастасия Александровна, e-mail: oftakit.popova@yandex.ru

Поступила в печать: 18.04.2019

Received for publication: April 18, 2019

ENGLISH

Research of Langerhans cells in the subepithelial corneal nerve fiber layer in primary open-angle glaucoma

POPOVA A.A., M.D.¹;

STRAKHOV V.V., Med.Sc.D, Professor, Head of the Ophthalmology Department²;

MURASHOV A.A., Doctor of Engineering Sciences³;

SHIRINA N.YU., Candidate of Engineering Sciences²;

SURNINA Z.V., Ph.D., M.D.⁴;

MALAKHOVA A.I., Ph.D., M.D.⁵;

KLIMOVA O.N., Ph.D., Assistant professor of the Ophthalmology Department².

¹Ltd «OphthaKIT», 91 Svobody str., Yaroslavl, Russian Federation, 150040;

²Yaroslavl State Medical University, 5 Revolucionnaya str., Yaroslavl, Russian Federation, 150000;

³Yaroslavl Higher Military School of Air Defense, 28 Moskovsky Prospect, Yaroslavl, Russian Federation, 150001;

⁴Scientific Research Institute of Eye Diseases, 11A, B Rossolimo st., Moscow, Russian Federation, 119021;

⁵Smolensk Regional Clinical Hospital, 27 Gagarina ave., Smolensk, Russian Federation, 2140005.

Conflicts of Interest and Source of Funding: none declared.

For citations: Popova A.A., Strakhov V.V., Murashov A.A., Shirina N.Yu., Surnina Z.V., Malakhova A.I., Klimova O.N. Research of Langerhans cells in the subepithelial corneal nerve fiber layer in primary open-angle glaucoma. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma*. 2019; 18(2):47-59.

Abstract

PURPOSE: To estimate the number of Langerhans cells (LC) in the cornea in primary open-angle glaucoma (POAG) at various stages of the disease.

METHODS: The study included 129 patients. The main group — 102 patients (204 eyes) aged from 42 to 83 years (62.5 ± 2.4 years) — diagnosed with POAG stage I-IV. The control group consisted of 27 ophthalmologically healthy volunteers (54 eyes) with a normal level of IOP and no signs of POAG aged 54 to 76 years (65.9 ± 1.4 years). The patients underwent visometry, biomicroscopy of the anterior segment of the eye, ophthalmoscopy, gonioscopy, Pascal contour tonometry, optical coherence tomography (OCT) (Zeiss Stratus 3000) and corneal confocal microscopy (CMR) (HRT III, with Rostock Cornea Modul).

RESULTS: The average number of LC in patients with glaucoma amounted to 144 ± 21 cells/mm². It was higher than in the norm group, the difference was statistically significant ($p=0.0002$). The study revealed an increase in the number of LC associated with the development of glaucoma. A significant positive correlation of the amount of LC in the nerve fiber layer with the stage of the disease ($R=0.23$, $p<0.05$) was also found, as well as a negative correlation with the

anisotropy coefficient of the directivity of the corneal nerve fibers in the POAG group ($R= -0.29$, $p<0.001$). Inter-eye asymmetry was investigated, which was found to be the higher, the greater the difference in the stages of POAG between paired eyes. With the value of the indicator of interocular asymmetry LC, equal to 19.68%, the sensitivity and specificity of the proposed indicator for the diagnosis of POAG were 94.1 and 66.6%, respectively. Thus, the values of the interocular asymmetry LC indicator above 19.68% are considered pathological.

CONCLUSION: The detected increase in the number of LC in the nerve fiber layer indicates the presence of an inflammatory process in the eye, which may well be autoimmune. And it may be the root cause of open-angle glaucoma, lead to pathological glaucomatous scleropathy with damage to the drainage apparatus of the eye and a corresponding increase in IOP level. It also causes a characteristic clinical course in the form of a chronic, bilateral, low-intensity process. In this sense, the neurodegenerative processes in the anterior and posterior segments of the eye are pathogenetically uniform.

KEYWORDS: glaucoma, confocal microscopy, Langerhans cells, OCT.

Глаукома занимает одно из ведущих мест среди причин слепоты и слабовидения в РФ [1-5]. Современные высокоточные методы диагностики, такие как оптическая когерентная томография (ОКТ), анализатор биомеханических свойств глаза (ORA), оптическая когерентная томография переднего отрезка глаза, конфокальная биомикроскопия, показывают, что при первичной

открытоугольной глаукоме (ПОУГ) поражается не только задний, но и передний сегмент глаза [6-9]. С помощью конфокальной биомикроскопии нами было проведено исследование состояния роговицы у больных с ПОУГ, выявившее дегенеративные изменения во всех слоях роговицы, в том числе в слое суббазальных нервных волокон (НБВ) [10, 11]. Было обнаружено, что в роговице глаукомных глаз

Таблица 1. Распределение пациентов по подгруппам в группе глаукомы в зависимости от стадии
 Table 1. The distribution of patients by subgroup in the group of glaucoma, depending on the stage

Стадия ПОУГ одного глаза POAG stage one of the eyes	ПОУГ I POAG I	ПОУГ I POAG II	ПОУГ I POAG III
Стадия ПОУГ другого глаза POAG stage of the other eye	Норма Norm	ПОУГ II	ПОУГ III
Количество пациентов в подгруппе, n The number of patients in the subgroup, n	26	18	15

наряду с дегенеративными изменениями НВР присутствует значительное количество клеток Лангерганса (КЛ), причем с нарастанием по мере прогрессирования глаукомы от стадии к стадии. Этот факт привлек наше внимание и стал основанием для специального исследования КЛ в роговице глаукомных глаз.

Клетки Лангерганса — представители иммунной системы костномозгового (моноцитарного) происхождения, являются подтипом дендритных клеток, до недавнего времени причислялись к макрофагам [12, 13]. КЛ — антигенпрезентирующая клетка, способная к фагоцитозу. КЛ выявляются в эпидермисе и в многослойных эпителиях эктодермального происхождения (эпителии полости рта, пищевода, роговицы и конъюнктивы глаза, влагалища и шейки матки). В роговице они доступны для исследования с помощью конфокальной биомикроскопии (КМР). Интерес исследования связан еще и с тем, что среди множества гипотез развития ПОУГ одной из самых передовых является иммунная [14, 15]. В рамках этой теории интересна оценка количества КЛ в роговице при ПОУГ, поскольку они участвуют в иммунном процессе и могут косвенно свидетельствовать о его заинтересованности.

Цель настоящего исследования — оценка количества КЛ в роговице при ПОУГ в различных стадиях заболевания.

Материалы и методы

В исследование вошли 129 пациентов. Основная группа — 102 пациента (204 глаза) в возрасте от 42 до 83 лет ($62,5 \pm 2,4$ года) — с диагнозом ПОУГ I-IV стадий.

В группе глаукомы были выделены подгруппы, где были объединены пациенты с одинаковыми комбинациями стадий ПОУГ на парных глазах, что отражено в табл. 1.

Контрольная группа — 27 пациентов (54 глаза) — офтальмологически здоровые добровольцы в возрасте от 54 до 76 лет ($65,9 \pm 1,4$ года) с нормальным уровнем ВГД и без признаков ПОУГ.

Было проведено стандартное офтальмологическое обследование всех пациентов, включающее: визометрию, биомикроскопию переднего отрезка

глаза, офтальмоскопию, гониоскопию, контурную тонометрию по методу Pascal, ОКТ (Zeiss Stratus 3000, Германия), нами также была проведена КМР (HRT III, с Rostock Cornea Modul), посредством программного обеспечения конфокального микроскопа в автоматическом режиме производился подсчет количества КЛ в слое НВР.

Конфокальные снимки, полученные методами КМР, подвергали обработке ПО Liner 1.1 (Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Способ диагностики диабетической полинейропатии. Патент РФ № 2014142571 от 22.10.2014 г.). Количественная оценка степени извитости нервных волокон роговицы проводилась посредством вычисления коэффициента анизотропии направленности НВР (KΔL) [16, 17], на основании которого для наглядности строится роза-диаграмма.

Методы статистической обработки данных. Обработку полученных данных производили с помощью программы Statistica 10 и пакета статистического анализа Microsoft Excel 2010. При этом все полученные результаты соответствуют современным требованиям представления статистической информации.

Статистическая обработка проводилась для количества КЛ правого и левого глаза с исследованием межокулярной асимметрии. При этом к больным относили пациентов с признаками глаукомы хотя бы на одном глазу. В качестве основного статистического показателя в данном исследовании использовался показатель межокулярной асимметрии КЛ.

Результаты и обсуждение

По данным литературы, в норме количество КЛ варьирует и составляет в центральной части роговицы 34 ± 3 кл./мм² и на периферии 98 ± 8 кл./мм² [12, 13, 26, 29].

Мы оценивали количество КЛ в слое НВР в центральной части роговицы. По нашим данным, в контрольной группе здоровых лиц количество КЛ составило 79 ± 14 кл./мм², что оказалось выше по сравнению с литературными данными. Причиной такого расхождения, возможно, является средний возраст ($65,9 \pm 1,4$ года) пациентов нашей выборки. Известно, что количество КЛ в роговице возрастает

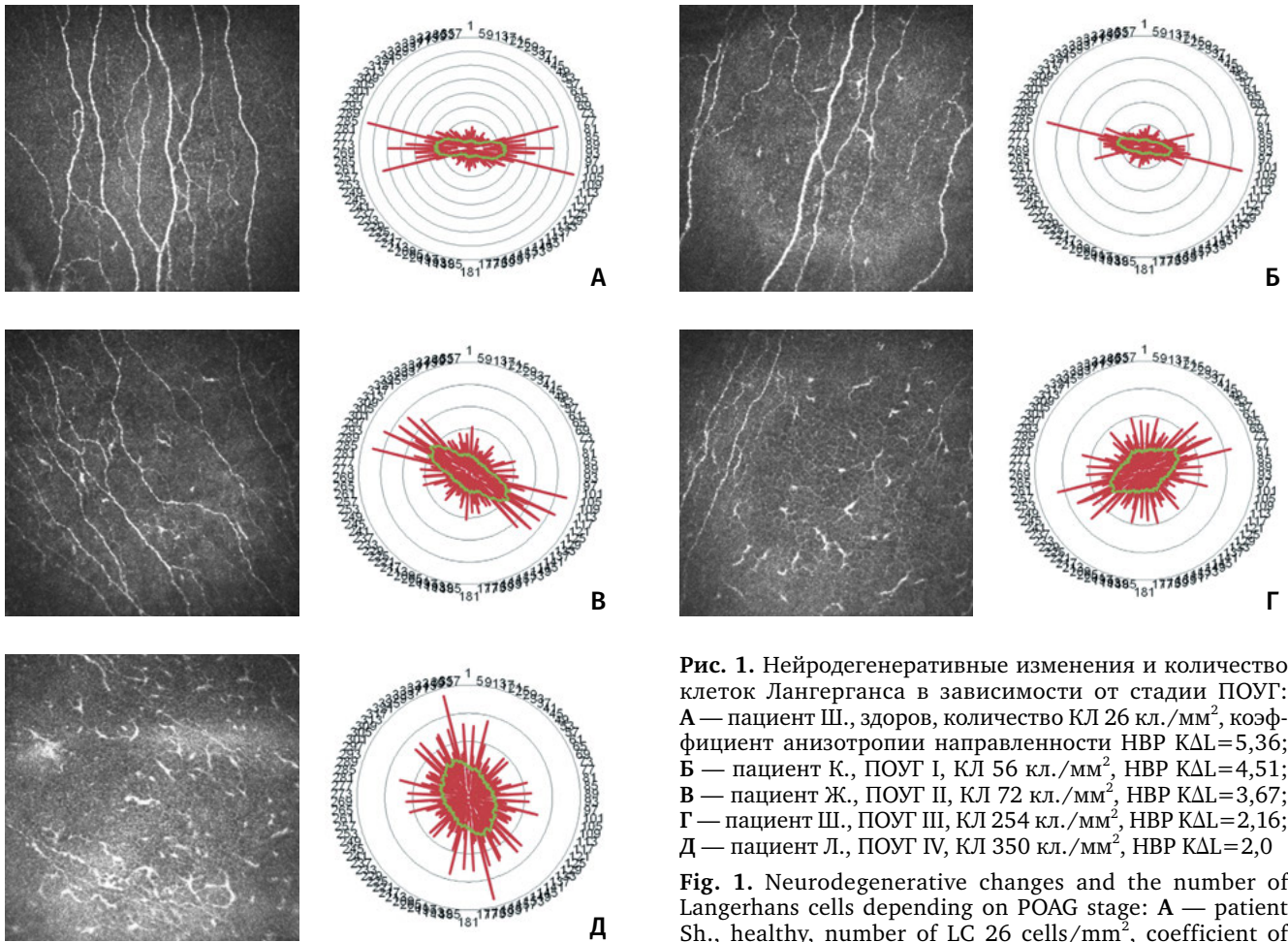


Рис. 1. Нейродегенеративные изменения и количество клеток Лангерганса в зависимости от стадии ПОУГ: А — пациент Ш., здоров, количество КЛ 26 кл./мм², коэффициент анизотропии направленности НВР КΔL=5,36; Б — пациент К., ПОУГ I, КЛ 56 кл./мм², НВР КΔL=4,51; В — пациент Ж., ПОУГ II, КЛ 72 кл./мм², НВР КΔL=3,67; Г — пациент Ш., ПОУГ III, КЛ 254 кл./мм², НВР КΔL=2,16; Д — пациент Л., ПОУГ IV, КЛ 350 кл./мм², НВР КΔL=2,0

Fig. 1. Neurodegenerative changes and the number of Langerhans cells depending on POAG stage: А — patient Sh., healthy, number of LC 26 cells/mm², coefficient of anisotropy of orientation of the corneal nerve fiber layer KΔL = 5.36; Б — patient K., POAG I, LC 56 cells/mm², KΔL = 4.51; В — patient J., POAG II, LC 72 cells/mm², KΔL = 3.67; Г — patient Sh., POAG III, LC 254 cells/mm², KΔL = 2.16; Д — patient L., POAG IV, LC 350 cells/mm², KΔL = 2.0

у пожилых пациентов по сравнению с молодыми [12, 13]. Этот факт подтверждает и выявленная нами корреляционная связь количества КЛ с возрастом в группе нормы ($R=0,41$, $p<0,05$, согласно методу Спирмена).

При ПОУГ среднее количество КЛ составило 144 ± 21 кл./мм², что достоверно отличается от группы нормы ($p=0,0002$) при сравнении двух независимых групп с использованием U-критерия Манна - Уитни. При корреляции этого показателя с возрастом (по Спирмену) не выявлено достоверных связей ($R=0,16$, $p=0,06$), что свидетельствует о неинволюционном характере указанных изменений количества КЛ при ПОУГ по сравнению с нормой.

По результатам конфокальной биомикроскопии пациентов с ПОУГ, мы наблюдали во всех слоях роговицы изменения [10, 11, 21, 22], которые оказались наиболее выраженными в слое НВР. Помимо нарастания выраженности дегенеративных изменений нервных волокон, проявляющихся в усилении их истончения и извитости [10, 11, 21, 22], было обнаружено неуклонное возрастание количества КЛ по мере развития заболевания (рис. 1, табл. 2).

Обращает на себя внимание увеличение количества КЛ от начальной глаукомы к терминальной. При корреляционном анализе по Спирмену выявлена достоверная, хотя и слабая, связь количества КЛ в слое НВР со стадией заболевания ($R=0,23$, $p<0,05$). Вместе с тем сам факт наличия связи возрастания количества КЛ в роговице по мере развития заболевания может нести оттенок специфичности роговичных изменений для первичной глаукомы. Но можно ли трактовать увеличение количества КЛ в роговице как признак наличия ПОУГ? На наш взгляд, это признак, характеризующий течение ПОУГ, дегенеративное неблагополучие в роговице, сопровождающееся вовлечением иммунной системы в патологический глаукомный процесс. В подтверждение этого предположения мы анализировали корреляцию количества КЛ с коэффициентом анизотропии направленности НВР в группе ПОУГ, получив хотя и слабую, но достоверную отрицательную корреляционную связь ($R= -0,29$, $p=0,0006$).

Таблица 2. Количественные изменения в слое НВР в группе глаукомы в зависимости от стадии

Table 2. Quantitative changes in the corneal nerve fiber layer in the glaucoma group depending on the stage

Исследуемая величина The investigated value	ПОУГ I POAG I	ПОУГ II POAG II	ПОУГ III POAG III	ПОУГ IV POAG IV	Достоверность различия, р* Reliability of differences, р *
КДЛ, (Ме (Q ₁ ; Q ₃))	2,72 (2,36; 3,44)	2,28 (1,55; 2,8)	2,05 (1,87; 2,50)	1,79 (1,59; 2,03)	р<0,05
КЛ, (Ме (Q ₁ ; Q ₃))	86 (44; 163,8)	132,5 (77; 17,8)	184 (105,5; 232)	185 (135,5; 14)	р<0,05

Примечание: * — согласно методике сравнения независимых групп Краскела - Уоллиса.

В группе нормы количество КЛ в слое НВР имеет широкий диапазон значений, и поэтому нас заинтересовало исследование межокулярной асимметрии количества КЛ при разностадийной ПОУГ на парных глазах [18, 19]. Для ее оценки мы использовали показатель асимметрии, который рассчитывался по следующей формуле (1):

$$\text{ПМА} = \frac{|\text{КЛ}_\Pi - \text{КЛ}_\text{Л}|}{(\text{КЛ}_\Pi + \text{КЛ}_\text{Л})/2} \times 100\%$$

где КЛ_П, КЛ_Л — соответственно количество КЛ правого и левого глаза пациента.

Необходимо отметить, что при исследовании межокулярной асимметрии структуры роговицы парных глаз у конкретного пациента увеличение количества КЛ в суббазальном слое НВР при ПОУГ было более заметным и даже подчеркнутым (рис. 2).

При исследовании межокулярной асимметрии количества КЛ в группе глаукомы были выделены подгруппы, критерием включения в подгруппу служила стадия ПОУГ на парных глазах одного пациента. Для каждой подгруппы рассчитан средний ПМА количества КЛ в слое НВР. Результаты представлены на рис. 3.

Следует отметить, что ПМА количества КЛ в слое НВР тем выше, чем больше расхождение по стадиям ПОУГ между парными глазами.

Вместе с тем полученные данные по расчетам ПМА не соответствовали нормальному распределению признака [22]. Поэтому в дальнейшем обработка результатов исследования проводилась для величины ПМА_{log}, которая получалась путем логарифмирования исходной асимметрии и определялась формулой (2):

$$\text{ПМА}_{\log} = \log_{2,7} \text{ПМА}$$

Последующие исследования показывают, что величина ПМА_{log}, определяемая формулой (2), не противоречит нормальному закону распределения.

В соответствии с критерием Пирсона [22] были проверены гипотезы о непротиворечии представленных данных по ПМА_{log} нормальному закону с надежностью $\gamma=0,95$.

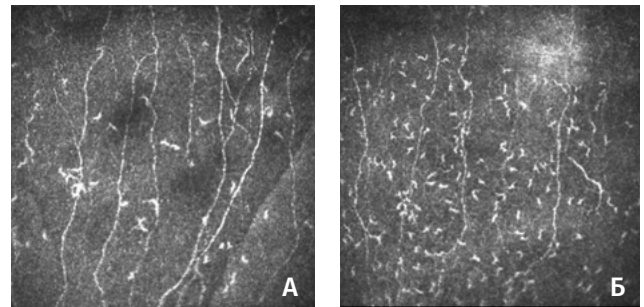


Рис. 2. Пациент Б. Конфокальные снимки слоя НВР: А — правый глаз, ПОУГ I стадии. Количество КЛ в слое НВР 132 кл./мм²; Б — левый глаз, ПОУГ III стадии. Количество КЛ в слое НВР 384 кл./мм²

Fig. 2. Patient B. Confocal images of the corneal nerve fiber layer: A — right eye, POAG I. The number of LC in the corneal nerve fiber layer 132 cells/mm²; Б — the left eye, POAG III. The number of LC in the corneal nerve fiber layer 384 cells/mm²

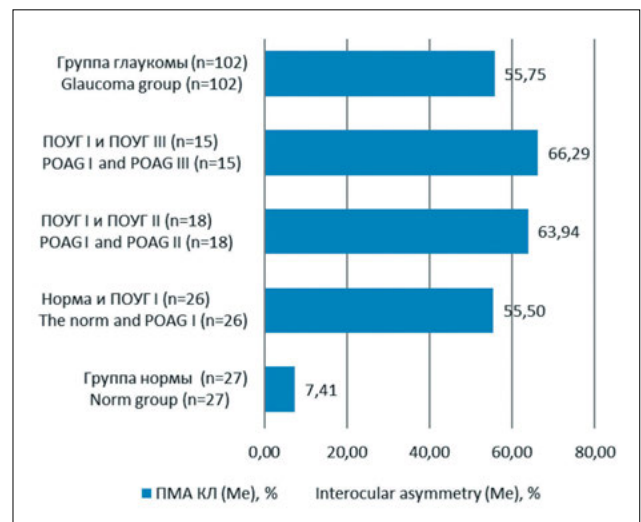


Рис. 3. Средний показатель межокулярной асимметрии количества КЛ в слое НВР при различных комбинациях стадийности ПОУГ

Fig. 3. The average number of interocular asymmetries in the number of LC in the corneal nerve fiber layer with different combinations of staging patterns of POAG

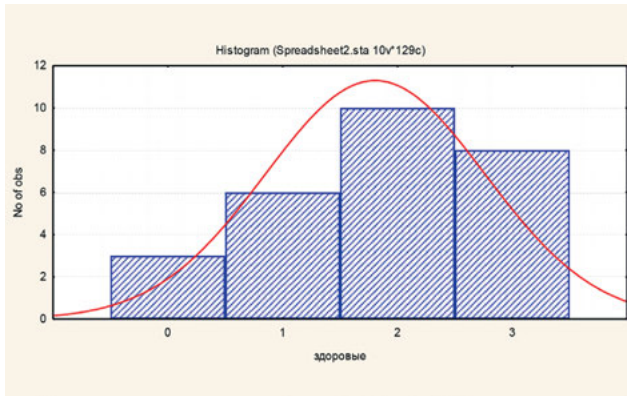


Рис. 4. Теоретическое распределение и гистограмма признака ПМАlog для здоровых лиц

Fig. 4. The theoretical distribution and histogram of the sign PMAlog for healthy individuals

На рис. 4, 5 представлены графики плотности вероятности отдельно для каждой категории обследованных (здоровые и больные).

На рис. 6 представлено совместное теоретическое распределение как для больных глаукомой, так и для здоровых лиц.

В настоящем исследовании в качестве статистического критерия при постановке диагноза используется критерий минимального среднего риска [23]. Это связано с тем, что в случае глаукомы более критичной является ошибка второго рода, которая состоит в ложноотрицательном результате при наличии болезни.

Точка отсечения значений ПМАlog выбрана так, чтобы значение специфичности оказалось несколько заниженным в пользу высокой чувствительности. Это связано с тем, что при постановке задачи среднего риска было сразу принято, что более критическими является пропуск больного, чем пропуск здорового.

При значении точки отсечения ПМАlog, равном 3, чувствительность и специфичность предлагаемого показателя для диагностики ПОУГ составили 94,1 и 66,6% соответственно. При этом привычный нелогарифмированный ПМА количества КЛ в слое НВР оказался равным 19,68%. Таким образом, значения ПМА выше 19,68% принимаются как патологические.

Клинический пример № 1 иллюстрирует наиболее типичные, характерные для разностадийной на парных глазах ПОУГ изменения как в головке зрительного нерва, так и в слое НВР.

Состояние ДЗН оценено с помощью ОКТ, выявившей известную ОКТ-симптоматику [6-8] в виде начального расширения экскавации и снижения толщины слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) при ПОУГ I стадии (рис. 7Б). При ПОУГ III стадии выявлена субтотальная экскавация ДЗН и снижение толщины СНВС во всех квадрантах (рис. 7А).

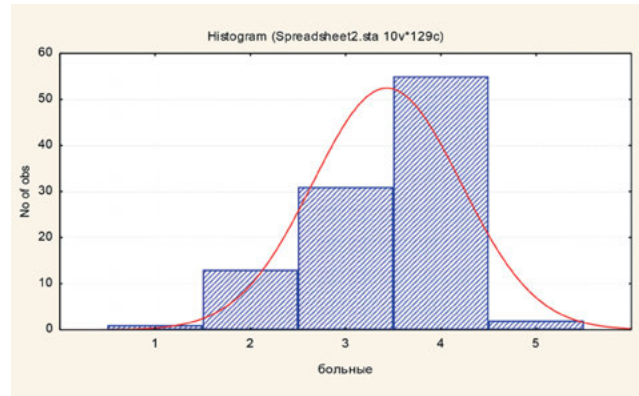


Рис. 5. Теоретическое распределение и гистограмма признака ПМАlog для пациентов с глаукомой

Fig. 5. Theoretical distribution and histogram of the PMAlog trait for patients with glaucoma

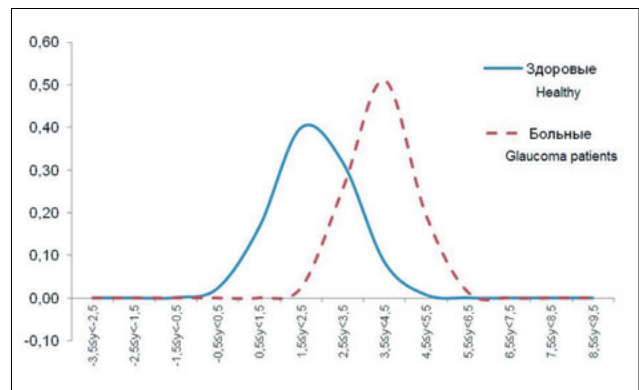


Рис. 6. Совместное теоретическое распределение признака ПМАlog для больных глаукомой и здоровых лиц

Fig. 6. Joint theoretical distribution of the PMAlog trait for glaucoma patients and healthy individuals

Картина конфокальной микроскопии при ПОУГ I стадии (рис. 8Б, Г) хотя и мало, но отличается от нормальной [24-41]. НВР прямолинейны, параллельны, толщина их незначительно снижена, дихотомичность ветвления не нарушена. Роза-диаграмма имеет приближенную к «нормальной» вытянутую форму. Количество КЛ несколько выше нормы. При ПОУГ III стадии (рис. 8А, В) нервные волокна истончаются, уменьшается их количество, параллельность и прямолинейность хода значительно снижаются, нарушена дихотомичность ветвления. На розе-диаграмме лучи имеют выраженный разнонаправленный ход. Количество КЛ превышает нормальное.

В приведенном примере межкокулярные структурные различия головки зрительного нерва, характерные для соответствующей стадии глаукомы, сопровождаются дегенеративными изменениями НВР и увеличением количества КЛ. Причем на глазу с развитой ПОУГ изменения в роговице более выражены по сравнению с парным глазом, где стадия ПОУГ начальная.

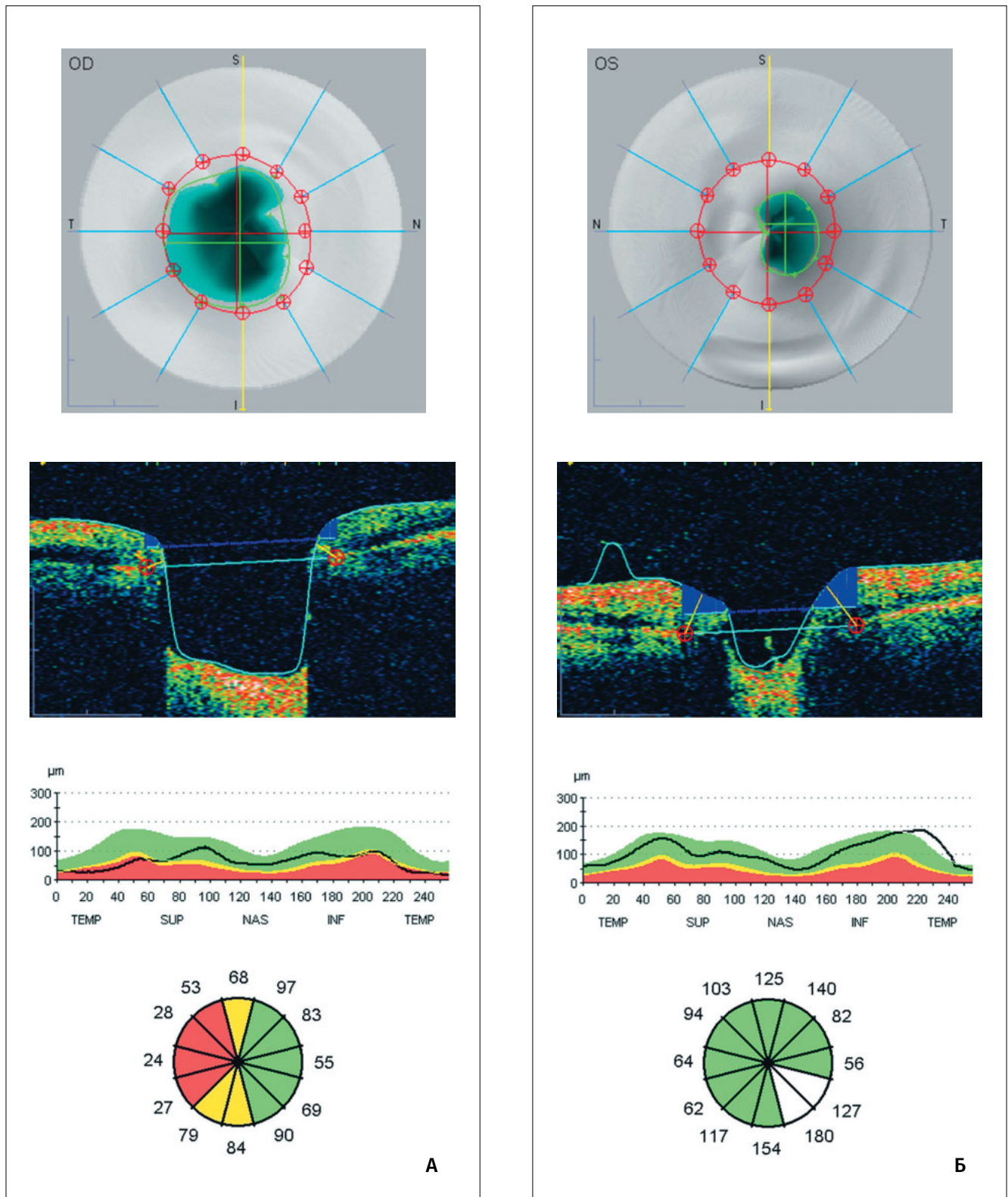


Рис. 7. ОКТ ДЗН. Пациентка Р., 61 год: **А** — правый глаз, ПОУТ III с, Rim Volume 0,078 mm³, Avg. Thickness RNFL 63,27 мкм; **Б** — левый глаз, ПОУТ I а, Rim Volume 0,357 mm³, Avg. Thickness RNFL 108,68 мкм

Fig. 7. OCT optic disc. Patient R., 61: **A** — right eye, POAG III c, Rim Volume 0.078 mm³, Avg. Thickness RNFL 63.27 microns; **B** — left eye, POAG Ia, Rim Volume 0.357 mm³, Avg. Thickness RNFL 108.68 microns

При этом ПМА для количества КЛ в слое НВР у данного пациента оказался равным 33%, что превышает полученное нами нормальное значение ПМА (не выше 19,68%):

$$\text{ПМА} = \frac{|134 - 96|}{|(134 + 96)| : 2} \times 100\% = 33\%$$

Для углубленного изучения специфичности появления КЛ в роговице при ПОУГ нами были обследованы пациенты с разными формами глаукомы, у которых рассчитывался ПМА. Причем при закрытоугольной и вторичной глаукоме были обнаружены заметные различия в структурном состоянии роговицы по сравнению с ПОУГ.

Для закрытоугольной глаукомы характерна похожая на норму биомикроскопическая картина роговицы при конфокальной микроскопии — в слое НВР волокна направлены преимущественно прямолинейно, ветвятся дихотомически, их количество и толщина не снижены. Однако присутствует межочулярная асимметрия как по толщине и прямолинейности хода нервных волокон, так и по количеству КЛ — на «худшем» глазу выше КДЛ и количество КЛ.

Так, в клиническом примере № 2 представлен случай закрытоугольной III а глаукомы левого глаза с офталмотонусом, уверенно нормализованным посредством лазерной иридэктомии.

На ОКТ ДЗН изменения имеют выраженную межочулярную асимметрию. При нормальной картине ОКТ правого глаза (рис. 9А) ОКТ-симптоматика левого глаза соответствует глаукоме III стадии: субтотальная экскавация ДЗН и снижение толщины СНВС во всех квадрантах (рис. 9Б).

При этом, проведя КМР слоя НВР, мы наблюдали картину, больше характерную для группы нормы в обоих глазах. Нервные волокна имеют прямолинейный ход, дихотомичность ветвления не нарушена, существенного уменьшения их количества и толщины не отмечалось. Розы-диаграммы хоть и отражают выраженную параллельность хода нервных волокон роговицы, но по состоянию НВР и КЛ все же имеется межочулярная асимметрия. На «худшем» глазу нервные волокна более тонкие, извитые и больше количество КЛ по сравнению с «лучшим» глазом (рис. 10).

Рассчитав ПМА количества КЛ парных глаз у данного пациента, мы получили значение 41%, что значительно превышает определенный нами порог нормального значения ПМА в 19,68%. Таким образом, значения количества КЛ в слое НВР в данном клиническом примере укладываются в значения нормы, но существенная межочулярная асимметрия, выраженная посредством ПМА, указывает на патологический глаукомный процесс.

$$\text{ПМА} = \frac{|41 - 27|}{|(41 + 27)| : 2} \times 100\% = 41\%$$

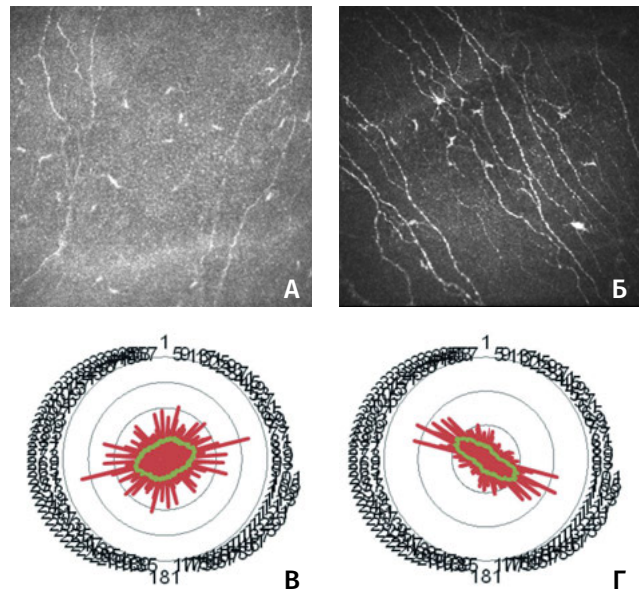


Рис. 8. Пациентка Р., 61 год; правый глаз — ПОУГ III с, ВГД Pascal $P_0=28,2$ мм рт.ст.; левый глаз — ПОУГ I а, ВГД Pascal $P_0=20,4$ мм рт.ст.:

А — конфокальный снимок НВР правого глаза, количество КЛ 134 кл./мм²; Б — конфокальный снимок НВР левого глаза, количество КЛ 96 кл./мм²; В — роза-диаграмма правого глаза, коэффициент анизотропии направленности НВР КДЛ=2,02; Г — роза-диаграмма левого глаза, коэффициент анизотропии направленности НВР КДЛ=4,46

Fig. 8. Patient R., 61; right eye — POAG III c, IOP Pascal $P_0=28.2$ mm Hg; left eye — POAG I a, IOP Pascal $P_0=20.4$ mm Hg: А — confocal image of the corneal nerve fiber layer of the right eye, the number of LC 134 cells/mm²; Б — confocal image of the corneal nerve fiber layer of the left eye, the number of LC 96 cells/mm²; В — the rose-diagram of the right eye, the coefficient of anisotropy of the orientation of the corneal nerve fiber layer КДЛ = 2.02; Г — rose diagram of the left eye, the coefficient of anisotropy of the orientation of the corneal nerve fiber layer КДЛ = 4.46

Обращает на себя внимание различие в картине роговицы при ПОУГ и ЗУГ.

С одной стороны, явления асимметрии указывают на присутствие глаукомы, с другой стороны, имеется существенная разница в роговичной симптоматике между двумя разными формами первичной глаукомы — открытоугольной и закрытоугольной.

Закключение

Являясь продолжением исследования суббазального слоя роговицы при ПОУГ с помощью конфокальной биомикроскопии, когда были выявлены существенные нейродегенеративные изменения в поверхностном нервном сплетении роговицы [10], данная работа позволила сконцентрировать внимание на появлении и распространении в глаукомной роговице клеток Лангерганса, сопровождавших нейродегенеративный процесс. Этот новый

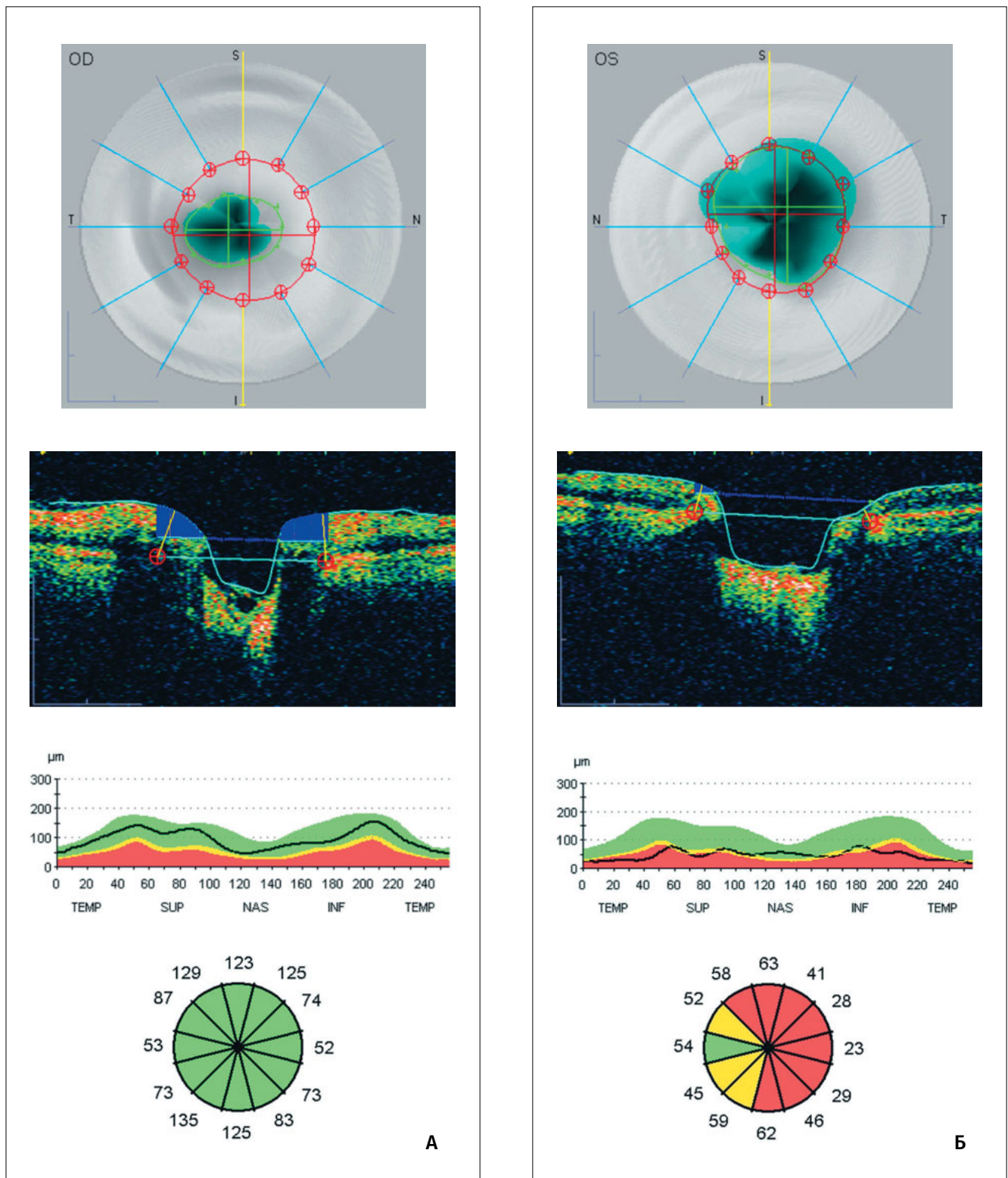


Рис. 9. ОКТ ДЗН. Пациент П., 56 лет:

А — правый глаз, здоров, Rim Volume 0,203 mm³, Avg. Thickness RNFL 94,15 мкм; Б — левый глаз, ЗУГ III а, Rim Volume 0,011 mm³, Avg. Thickness RNFL 46,47 мкм

Fig. 9. OCT optic disc. Patient P., 56 years old:

А — right eye, healthy, Rim Volume 0,203 mm³, Avg. Thickness RNFL 94.15 microns; Б — left eye, angle-closure glaucoma III a, Rim Volume 0.011 mm³, Avg. Thickness RNFL 46.47 microns

метод прижизненного исследования ткани глаукомного глаза на клеточном уровне потенциально мог иметь патогенетическую значимость. И действительно, само появление этих иммунокомпетентных клеток в ткани роговицы уже на ранних стадиях первичной глаукомы и нарастание их количества по мере развития заболевания от стадии к стадии на фоне нейродегенеративного процесса в роговице порождает вопрос о причине, значимости и специфичности происходящих событий для глаукомного процесса.

В результате исследования было выявлено статистически значимое (по сравнению с нормой) повышение количества КЛ в слое НВР при ПОУГ, причем уже на ранней стадии заболевания. При нарастании стадий ПОУГ количество КЛ статистически значимо увеличивалось ($R=0,23$, $p<0,05$). При этом увеличению количества КЛ в суббазальном слое роговицы по мере развития заболевания соответствовало нарастание дистрофических изменений самих нервных волокон — они истончались, уменьшалось их количество, нарушалась параллельность и прямолинейность хода и дихотомичность ветвления. Это подтверждалось снижением коэффициента анизотропии направленности НВР и разнонаправленным ходом лучей при построении розы-диаграммы.

Обнаруженная взаимосвязь отмеченных изменений в суббазальном слое роговицы с отрицательной динамикой глаукомного процесса косвенно указывает на специфичность происходящих в роговице дегенеративных проявлений. Вместе с тем, учитывая иммунную природу КЛ, этот факт свидетельствует о вовлечении в патологический глаукомный процесс иммунной системы. Однако можно ли считать такой ответ иммунной системы специфичным именно для глаукомы? Вопрос сложный, поскольку можно ожидать увеличения количества КЛ в ответ на присутствие или развитие общих заболеваний, т. е. как системный ответ, а не только местный. Уйти от такого «системного шума» позволяет исследование межукулярной асимметрии наличия и степени выраженности количества КЛ в роговицах парных глаз с разностадийной глаукомой с расчетом предложенного показателя межулярной асимметрии (ПМА). Однако в ходе исследования выяснилось несоответствие рассчитываемого ПМА количества КЛ в роговице нормальному распределению значений. Прологарифмировав ПМА ($\text{ПМА}^* = \log_{2,7} A_s$), мы получили ПМАlog, который не противоречит нормальному закону распределения. Причем предлагаемый ПМАlog КЛ имеет высокую чувствительность, что важно при ранней диагностике и мониторинге ПОУГ.

Таким образом, объективное присутствие нейродегенеративного процесса в суббазальном слое роговицы, такого далекого от концептуального нейродегенеративного процесса в головке зрительного

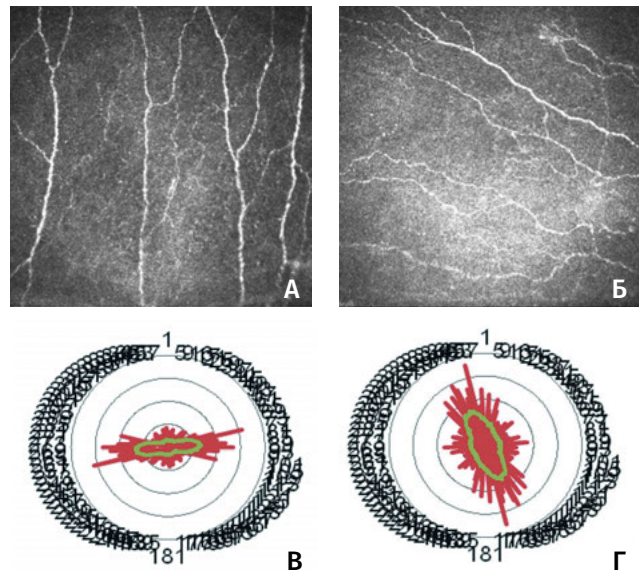


Рис. 10. Пациент П., 56 лет; правый глаз — здоров, ВГД Pascal $P_0=18,6$ мм рт.ст.; левый глаз — ЗУГ III а, ВГД Pascal $P_0=18,8$ мм рт.ст.:

А — конфокальный снимок НВР правого глаза, количество КЛ 27 кл./мм²; Б — конфокальный снимок НВР левого глаза, количество КЛ 41 кл./мм²; В — роза-диаграмма правого глаза, коэффициент анизотропии направленности НВР $K\Delta L=5,2$; Г — роза-диаграмма левого глаза, коэффициент анизотропии направленности НВР $K\Delta L=3,12$

Fig. 10. Patient P., 56 years old; the right eye is healthy, IOP Pascal $P_0 = 18.6$ mm Hg; left eye — angle-closure glaucoma III a, IOP Pascal $P_0 = 18.8$ mm Hg:

А — confocal image of the corneal nerve fiber layer of the right eye, the number of LC 27 cells/mm²; Б — confocal image of the corneal nerve fiber layer of the left eye, the number of LC 41 cells/mm²; В — rose diagram of the right eye, coefficient of anisotropy of the orientation of corneal nerve fiber layer $K\Delta L = 5.2$; Г — rose-diagram of the left eye, the coefficient of anisotropy directivity corneal nerve fiber layer $K\Delta L = 3.12$

нерва, да еще и сопровождающегося появлением КЛ с нарастанием их количества по мере развития заболевания, требует причинностного объяснения и патофизиологической интерпретации. Мы связываем возникновение нейродегенеративных изменений роговицы с биомеханическим повреждением ткани вследствие повышенного ВГД, а конкретно с растяжением наружной капсулы глаза или корнеосклеральной оболочки в ответ на повышение ВГД (рис. 5), приводящее к деформации слоев роговицы наподобие склеральных деформаций при описанном stress-strain феноменом [1, 37-40]. Зависимость нейродегенеративного процесса в роговице от уровня ВГД хорошо просматривалась в клинике на примерах с различными формами глаукомы. Так, при первичной закрытоугольной глаукоме с устойчиво нормализованным лазерной иридэктомией офтальмотонусом дегенеративные изменения нервных волокон и количество КЛ в суббазальном слое

роговицы слое были минимальными, но в случаях выраженной разностадийности заболевания всё же присутствовала характерная для первичной глаукомы межулярная асимметрия как по количеству КЛ, так и по дегенеративному состоянию нервных волокон роговицы. При вторичной пигментной глаукоме с повышенным ВГД реакция роговицы оказалась несколько иной: количество КЛ в слое НВР значительно превышало норму, и при этом состояние нервных волокон было без существенных патологических изменений.

Вместе с тем важно отметить, что биомеханические события глаукомного глаза в связи с повышением ВГД возникают не на пустом месте, а на фоне иммунно-нейроэндокринной дисрегуляции, способной изменить цитокиновый статус на местном и системном уровне при любой возраст-ассоциированной офтальмопатологии, в частности при ПОУГ [46]. Поэтому отнюдь не случайно ПОУГ ассоциируется с нарушением функциональной активности Т-системы иммунитета, накоплением тканеспецифических аутоантител, главным образом против трабекулы [47], а также появлением повышенного

уровня провоспалительных цитокинов (IFN- γ , IL-1 β , TNF- α) в слезной жидкости и сыворотке крови. Более того, была установлена корреляционная взаимосвязь между уровнями IL-1 β и ВГД [48]. Нарастание провоспалительного компонента на системном и главным образом на местном уровнях и их участие в глаукомном процессе позволило М. Schwartz, G. Tezel и М.В. Wax сформулировать теорию «вялотекущего воспаления» при данном заболевании [49-50]. С этих позиций связанное с повышением ВГД появление иммунокомпетентных КЛ в роговице кажется уже не таким и загадочным. На наш взгляд, именно аутоиммунный воспалительный процесс, маркером которого как раз и являются КЛ, может претендовать на первопричинность открытоугольной глаукомы, приводить к патологической глаукомной склеропатии с повреждением дренажного аппарата глаза и соответствующим повышением ВГД, а также диктовать характерное клиническое течение в виде хронического двухстороннего вялотекущего процесса. В этом смысле нейродегенеративные процессы в переднем и заднем сегментах глаза патогенетически едины.

Литература

1. Волков В.В. Глаукома открытоугольная. Москва: МИА; 2008; 348 с.
2. Quigley H.A., Broman A.T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90(3):262-267.
3. Нероев В.В. Работа Российского национального комитета по ликвидации устранимой слепоты в рамках программы ВОЗ «Зрение 2020». Доклад на Российском общенациональном офтальмологическом форуме. Москва, 2014. [Электронный ресурс] URL: <http://www.helmholtzeinstitute.ru/> (дата обращения 27.07.2017)
4. Нероев В.В., Киселева О.А., Бессмертный А.М. Результаты мультицентровых исследований эпидемиологических особенностей первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации. *Российский офтальмологический журнал.* 2013; 3:4-7.
5. Leske M.C., Wu S.Y., Hennis A. et al. Risk factors for incident open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology.* 2008; 115:85-93.
6. Еричев В.П., Петров С.Ю., Козлова И.В., Макарова А.С., Решикова В.С. Современные методы функциональной диагностики и мониторинга глаукомы. Часть 1. Периметрия как метод функциональных исследований. *Национальный журнал глаукома.* 2015; 14(2):75-81.
7. Еричев В.П., Петров С.Ю., Макарова А.С., Козлова И.В., Решикова В.С. Современные методы функциональной диагностики и мониторинга глаукомы. Часть 2. Диагностика структурных повреждений сетчатки и зрительного нерва. *Национальный журнал глаукома.* 2015; 14(3):72-79.
8. Еричев В.П., Петров С.Ю., Козлова И.В., Макарова А.С., Решикова В.С. Современные методы функциональной диагностики и мониторинга глаукомы. Часть 3. Роль морфофункциональных взаимоотношений в раннем выявлении и мониторинге глаукомы. *Национальный журнал глаукома.* 2016; 15(2):96-101.
9. Страхов В.В., Алексеев В.В. Патогенез первичной глаукомы — «все или ничего». *Глаукома.* 2009; 2:40-52.
10. 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; 16(4):52-68.
11. Алексеев И.Б., Страхов В.В., Мельникова Н.В., Попова А.А. Изменения фиброзной оболочки глаза у пациентов с впервые выявленной первичной открытоугольной глаукомой. *Национальный журнал глаукома.* 2016; 15(1):13-24.

References

1. Volkov V.V. Glaukoma otkrytougol'naja. [Open-angle glaucoma]. Moscow: MIA, 2008; 348 p. (In Russ.).
2. Quigley H.A., Broman A.T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90(3):262-267.
3. Neroyev V.V. The work of the Russian National Committee on the Elimination of Dispensable Blind in the framework of the WHO program "Vision 2020". Report at the Russian National Ophthalmological Forum. Moscow, 2014. [Electronic resource] URL: <http://www.helmholtzeinstitute.ru/> (appeal date 07/27/2017)
4. Neroyev V.V., Kiseleva O.A., Bessmertny A.M. The results of multicenter studies of epidemiological characteristics of primary open angle glaucoma in the Russian Federation. *Russian Ophthalmological J.* 2013; 3:4-7. (In Russ.).
5. Leske M.C., Wu S.Y., Hennis A. et al. Risk factors for incident open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology.* 2008; 115:85-93.
6. Eriчев V.P., Petrov S.Y., Kozlova I.V., Makarova A.S., Reshchikova V.S. Modern methods of functional diagnostics and monitoring of glaucoma. Part 1. Perimetry as a functional diagnostics method. *National Journal glaucoma.* 2015;14(2):75-81. (In Russ.).
7. Eriчев V.P., Petrov S.Y., Kozlova I.V., Makarova A.S., Reshchikova V.S. Modern methods of functional diagnostics and monitoring of glaucoma. Part 2. Diagnosis of structural damage of the retina and optic nerve. *National Journal glaucoma.* 2015; 14(3):72-79. (In Russ.).
8. Eriчев V.P., Petrov S.Y., Kozlova I.V., Makarova A.S., Reshchikova V.S. Modern methods of functional diagnostics and monitoring of glaucoma. Part 3. The role of the morphological and functional relationships in the early detection and monitoring of glaucoma. *National Journal glaucoma.* 2016; 15(2):96-101. (In Russ.).
9. Strakhov V.V., Alekseev V.V. The pathogenesis of primary glaucoma — «all or nothing». *Glaucoma.* 2009; 2:40-52. (In Russ.).
10. Strakhov V.V., Surnina Z.V., Malakhova A.I., Klimova O.N., Popova A.A. Degenerative changes of the corneal nerves in patients with primary open-angle glaucoma. *National Journal glaucoma.* 2017; 16(4):52-68. (In Russ.).
11. Alekseev I.B., Strakhov V.V., Melnikova N.V., Popova A.A. Changes in the fibrous tunic of the eye in patients with newly diagnosed primary open-angle glaucoma. *National Journal glaucoma.* 2016; 15(1):13-24. (In Russ.).

12. Zhivov A., Stave J., Vollmar B., Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005; 243:1056-1061.
13. Guthoff R.F., Baudouin C., Stave J. Atlas of confocal laser scanning in vivo microscopy in ophthalmology. Principles and applications in diagnostic and therapeutic ophthalmology. SpringerVerlag Berlin Heidelberg; 2006. 34 p.
14. Петров С.Ю., Фокина Н.Д., Шерстнева Л.В., Вострухин С.В., Сафонова Д.М. Этиология первичной глаукомы: современные теории и исследования. *Офтальмологические ведомости*. 2015; 8(2):47-56.
15. Рукина Д.А., Догадова Л.П., Маркелова Е.В., Абдуллин Е.А., Осыховский А.Л., Хохлова А.С. Иммунологические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы. *Клиническая офтальмология*. 2011; 12(4):162-165.
16. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Новиков И.А., Махотин С.С. Новые подходы к оценке состояния нервных волокон роговицы. В кн.: VIII Российский общенациональный офтальмологический форум. Сб. науч. тр. 2015: 48-50.
17. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Вычисление коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервов роговицы на основе автоматизированного распознавания цифровых конфокальных изображений. *Медицинская техника*. 2015; 3:23-25.
18. Страхов В.В., Алексеев В.В., Попова А.А., Аль-Мррани А.М. Межулярная асимметрия толщины радужки и склеры по данным ультразвуковой биомикроскопии в норме и при первичной открытоугольной глаукоме. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2012; 13(4):118-120.
19. Страхов В.В., Ермакова А.В., Корчагин Н.В., Казанова С.Ю. Асимметрия тонометрических, гемодинамических и биоретинотометрических показателей парных глаз в норме и при первичной глаукоме. *Глаукома*. 2008; 4:11-16.
20. Деев Л.А., Молчанов В.В., Малахова А.И., Андреева О.В. Классификация патоморфологических изменений роговицы на фоне терминальной стадии первичной глаукомы. *Глаукома*. 2010; 4:3-9.
21. Малахова А.И., Деев Л.А., Молчанов В.В. Изменения роговицы у больных с первичной открытоугольной глаукомой. *Национальный журнал глаукома*. 2015; 14(1):84-93.
22. Юнкеров В.И., Григорьев С.Е. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб.: ВМедА; 2002. 266 с.
23. Peat J., Barton B. Medical statistics: a guide to data analysis and critical appraisal NY: Blackwell Publishing, 1st ed. 2005. 324 p.
24. Егорова Г.Б., Федоров А.А., Аверич В.В. Морфологические изменения при глаукоме на фоне повышенного ВГД и при длительной гипотензивной терапии по результатам конфокальной микроскопии роговицы. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2016; 3:113-117.
25. Ranno S., Fogagnolo P., Rossetti L., Orzalesi N., Nucci P. Changes in corneal parameters at confocal microscopy in treated glaucoma patients. *Clin ophthalmol*. 2011; 5:1037-1042.
26. Masters B.R. Confocal microscopy: history, principles, instruments, and some applications to the living eye. *Comments Mol Cell Biophys*. 1995; 8(5):243-271.
27. Muller L.J., Vrensen G.F., Pels L., Cardozo B.N., Willekens B. Architecture of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38:985-994.
28. Muller L.J., Marfurt C.F., Kruse F., Tervo T.M. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exper Eye Res*. 2003; 76:521-542.
29. Tavakoli M., Hossain P., Malik R.A. Clinical application of corneal confocal microscopy. *Clin Ophthalmol*. 2008; 2(2):435-445.
30. Scarpa F., Grisan E., Ruggeri A. Automatic recognition of corneal nerve structures in images from confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49:4801-4807.
31. Prydal J.I., Kerr Muir M.G., Dilly P.N., Corbett M.C., Verma S., Marshall J. Confocal microscopy using oblique sections for measurement of corneal epithelial thickness in conscious humans. *Acta Ophthalmol Scand*. 1997; 75:624-628.
32. Petroll W.M., Jester J.V., Cavanagh H.D. In vivo confocal imaging. *Int Rev Exp Pathol*. 1996; 36:93-129.
33. Kohler B., Allgeier S., Eberle F. et al. Image reconstruction of the corneal subbasal nerve plexus with extended field of view from focus image stacks of a confocal laser scanning microscope. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2011; 228:1060-1066.
34. Oliveira-Soto L., Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*. 2001; 20:374-384.
12. Zhivov A., Stave J., Vollmar B., Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005; 243:1056-1061.
13. Guthoff R.F., Baudouin C., Stave J. Atlas of confocal laser scanning in vivo microscopy in ophthalmology. Principles and applications in diagnostic and therapeutic ophthalmology. SpringerVerlag Berlin Heidelberg; 2006. 34 p.
14. Petrov S.Yu., Fokina N.D., Sherstneva L.V., Vostrukhin S.V., Safonova D.M. Primary glaucoma etiology: current theories and researches. *Ophthalmologic vedomosti*. 2015; 8(2):47-56. (In Russ.).
15. Rukina D.A., Dogadova L.P., Markelova E.V., Abdullin E.A., Osykhovskii A.L., Khokhlova A.S. Immunologic aspects of primary open-angle glaucoma pathogenesis. *RMJ Clinical Ophthalmology*. 2011; 12(4):162-165. (In Russ.).
16. Avetisov S.E., Surnina Z.V., Novikov I.A., Makhotin S.S. New approaches to assess the condition of nerve fibers of the cornea. In: VIII Russian national ophthalmological forum. Col. Sci. P. 2015: 48-50. (In Russ.).
17. Avetisov S.E., Novikov I.A., Makhotin S.S., Surnina Z.V. Calculation of the coefficients of anisotropy and symmetry of the nerve orientation of the cornea on the basis of automated recognition of digital confocal images. *Medical equipment*. 2015; 3:23-25. (In Russ.).
18. Strakhov V.V., Alekseev V.V., Popova A.A., Al-Mrrani A.M. Intraocular asymmetry of thickness of iris and sclera according to ultrasound biomicroscopy in normal and with primary open-angle glaucoma. *RMJ Clinical Ophthalmology*. 2012; 13(4):118-120. (In Russ.).
19. Strakhov V.V., Ermakova A.V., Korchagin N.V., Kasanova S.Yu. Asymmetry of the tonometric, hemodynamic, and bioretinometric parameters of paired eyes in norm and in primary glaucoma. *Glaucoma*. 2008; 4:11-16. (In Russ.).
20. Deev L.A., Molchanov V.V., Malakhova A.I., Andreeva O.V. Classification of pathomorphological changes in the cornea in the background of the terminal stage of primary glaucoma. *Glaucoma*. 2010; 4:3-9. (In Russ.).
21. Malakhova A.I., Deev L.A., Molchanov V.V. Changes in the cornea in patients with primary open-angle glaucoma. *National Journal glaucoma*. 2015; 14 (1):84-93. (In Russ.).
22. Yunkero V.I., Grigoriev S.E. Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovani. [Mathematical-statistical processing of medical research data]. St. Petersburg: Military Medical Academy; 2002. 266 p. (In Russ.).
23. Peat J., Barton B. Medical statistics: a guide to data analysis and critical appraisal NY: Blackwell Publishing, 1st ed. 2005. 324 p.
24. Egorova G.B., Fedorov A.A., Averich V.V. Morphological changes in glaucoma against a background of increased IOP and with prolonged hypotensive therapy based on the results of confocal microscopy of the cornea. *RMJ Clinical Ophthalmology*. 2016; 3:113-117. (In Russ.).
25. Ranno S., Fogagnolo P., Rossetti L., Orzalesi N., Nucci P. Changes in corneal parameters at confocal microscopy in treated glaucoma patients. *Clin ophthalmol*. 2011; 5:1037-1042.
26. Masters B.R. Confocal microscopy: history, principles, instruments, and some applications to the living eye. *Comments Mol Cell Biophys*. 1995; 8(5):243-271.
27. Muller L.J., Vrensen G.F., Pels L., Cardozo B.N., Willekens B. Architecture of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38:985-994.
28. Muller L.J., Marfurt C.F., Kruse F., Tervo T.M. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exper Eye Res*. 2003; 76:521-542.
29. Tavakoli M., Hossain P., Malik R.A. Clinical application of corneal confocal microscopy. *Clin Ophthalmol*. 2008; 2(2):435-445.
30. Scarpa F., Grisan E., Ruggeri A. Automatic recognition of corneal nerve structures in images from confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49:4801-4807.
31. Prydal J.I., Kerr Muir M.G., Dilly P.N., Corbett M.C., Verma S., Marshall J. Confocal microscopy using oblique sections for measurement of corneal epithelial thickness in conscious humans. *Acta Ophthalmol Scand*. 1997; 75:624-628.
32. Petroll W.M., Jester J.V., Cavanagh H.D. In vivo confocal imaging. *Int Rev Exp Pathol*. 1996; 36:93-129.
33. Kohler B., Allgeier S., Eberle F. et al. Image reconstruction of the corneal subbasal nerve plexus with extended field of view from focus image stacks of a confocal laser scanning microscope. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2011; 228:1060-1066.
34. Oliveira-Soto L., Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*. 2001; 20:374-384.

35. Masters B.R., Thaer A.A. In vivo human corneal confocal microscopy of identical fields of subepithelial nerve plexus, basal epithelial, and wing cells at different times. *Microsc Res Tech.* 1994; 29:350–356.
36. Аветисов С.Э., Егорова Г.Б., Федоров А.А. и др. Конфокальная микроскопия роговицы. Сообщение 1. Особенности нормальной морфологической картины. *Вестник офтальмологии.* 2008; 3:3–5.
37. Ткаченко Н.В., Астахов Ю.С. Диагностические возможности конфокальной микроскопии при исследовании поверхностных структур глазного яблока. *Офтальмологические ведомости.* 2009; 2(1):82–89.
38. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии. СПб.: ИИЦ РАН; 2007: 6–10.
39. Marfurt C.F., Cox J., Deek S., Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervations. *Exper Eye Res.* 2009; 90:478–492.
40. Jalbert I., Stapleton F., Papas E., Sweeney D.F., Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87(2):225–236.
41. Efron N., Perez-Gomez I., Mutalib H.A. Confocal microscopy of the human cornea. *Cont Lens Anterior Eye.* 2001; 24:16–24.
42. Burgoyne C.F., Downs J.C., Bellezza A.J. at al. The optic nerve head as biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Progr Retin Eye Res.* 2005; 24:19–73.
43. Burgoyne C.F., Morrison J.C. The anatomy and pathophysiology of the optic nerve head in glaucoma. *J Glaucoma.* 2001; 10(5):16–18.
44. Quigley H., Anderson D. Distribution of axonal transport blockade by acute intraocular pressure elevation in the primate optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977; 16(7):640–644.
45. Quigley H., Addicks E.M., Green W.R. Optic nerve damage in human glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1982; 100:135–146.
46. Куроедов А.В., Городничий В.В. Компьютерная ретинотомография (HRT): диагностика, динамика, достоверность. Москва: Столичный бизнес; 2007. 231 с.
47. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2009: 308–311.
48. Ляшенко А.А. Цитокины и молекулярные основы заболеваний старческого возраста. *Клиническая геронтология.* 2003; 3:45–54.
49. Слепова О.С., Арапиев М.У., Ловпаче Дж.Н. и др. Особенности местного и системного цитокинового статуса у здоровых разного возраста и пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы. *Национальный журнал глаукома.* 2016; 15(1): 3–12.
50. Новиков Д.К., Генералов И.И., Данюшенкова Н.М. Медицинская микробиология. Витебск; 2010. 597 с.
35. Masters B.R., Thaer A.A. In vivo human corneal confocal microscopy of identical fields of subepithelial nerve plexus, basal epithelial, and wing cells at different times. *Microsc Res Tech.* 1994; 29:350–356.
36. Avetisov S.A., Egorova G.B., Fedorov A.A. et al. Confocal microscopy of the cornea. Message 1. Features of a normal morphological picture. *Vestn Oftalmol.* 2008; 3: 3–5. (In Russ.).
37. Tkachenko N.V., Astakhov Yu.S. Diagnostic possibilities of confocal microscopy in the investigation of the surface structures of the eyeball. *Ophthalmologic vedomosti.* 2009; 2(1):82–89. (In Russ.).
38. Stein G.I. Rukovodstvo po konfokal'noi mikroskopii. [Manual on confocal microscopy]. Sankt-Peterburg: INC RAS; 2007:6–10. (In Russ.).
39. Marfurt C.F., Cox J., Deek S., Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervations. *Exper Eye Res.* 2009; 90:478–492.
40. Jalbert I., Stapleton F., Papas E., Sweeney D.F., Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87(2):225–236.
41. Efron N., Perez-Gomez I., Mutalib H.A. Confocal microscopy of the human cornea. *Cont Lens Anterior Eye.* 2001; 24:16–24.
42. Burgoyne C.F., Downs J.C., Bellezza A.J. at al. The optic nerve head as biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Progr Retin Eye Res.* 2005; 24:19–73.
43. Burgoyne C.F., Morrison J.C. The anatomy and pathophysiology of the optic nerve head in glaucoma. *J Glaucoma.* 2001; 10(5):16–18.
44. Quigley H., Anderson D. Distribution of axonal transport blockade by acute intraocular pressure elevation in the primate optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977; 16(7):640–644.
45. Quigley H., Addicks E.M., Green W.R. Optic nerve damage in human glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1982; 100:135–146.
46. Kuroedov A.V., Gorodnichiy V.V. Komp'yuternaya retinotomografiya (HRT): diagnostika, dinamika, dostovernost'. [Computed tomography (HRT): diagnostics, dynamics, authenticity.] Moscow: Stolichniy bisnes; 2007. 231 p. (In Russ.).
47. Khaitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii. [Manual of clinical immunology.] Moscow: Geotarmedia; 2009. 308–311. (In Russ.).
48. Lyashenko A.A. Cytokines and molecular basis of age diseases. *Clinical gerontology.* 2003; 3:45–54. (In Russ.).
49. Slepova O.S., Arapiev M.U., Lovpache J.N. et al. Peculiarities of local and systemic cytokine status in healthy people of different ages and patients with the initial stage of primary open-angle glaucoma. *National Journal of Glaucoma* 2016; 15(1):3–12. (In Russ.).
50. Novikov D.K., Generalov I.I. Danyushenkova N.M. Medicinskaya mikrobiologiya. [Medical microbiology]. Vitebsk; 2010. 597 p. (In Russ.).

Поступила / Received / 18.04.2019