

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017  
УДК 617.753-07:617.764-008.811

*Ковалевская М.А.<sup>1</sup>, Черникова И.В.<sup>2</sup>, Подопривога В.С.<sup>1</sup>, Сергеева М.И.<sup>1</sup>*

## ПРОТЕОМНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В РЕФРАКЦИОННОЙ КОРРЕКЦИИ АМЕТРОПИЙ

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»  
Минздрава России, 394000, Воронеж, РФ;  
<sup>2</sup> ООО «Глазной центр доктора Черниковой», 394000, Воронеж, РФ

**Цель.** Анализ протеомного статуса слезной жидкости и состояния глазной поверхности у пациентов с аметропиями до и после операции ЛАСИК.

**Материал и методы.** В исследование включены 163 пациента (326 глаз), которые были распределены на 3 группы: 1-я группа – 51 (102 глаза) пациент зрелого возраста (от 35 до 54 лет) с миопией высокой степени и астигматизмом; 2-я – 26 (52 глаза) пациентов зрелого возраста (от 35 до 55 лет) с гиперметропией средней, высокой степени и астигматизмом; 3-я – 86 (172 глаза) пациентов молодого возраста (от 18 до 34 лет) с миопией высокой степени и астигматизмом. Осуществляли диагностику «сухого глаза» и состояния роговицы (тест Липкоф, тест Ширмера, проба Норна, окраска роговицы флюоресцеином), определяли показатели антиоксидантной активности слезы – экспрессия пероксиредоксина 6 (PRDX6).

**Результаты и обсуждение.** Уровень экспрессии PRDX 6 после ЛАСИК у пациентов с миопией повысился в 1,4 раза, у пациентов с гиперметропией – в 1,07 раз, то есть изменился незначительно после операции и был 6,2 раза меньше, чем у миопов.

**Выводы.** В 1-й группе достоверными были 2 пробы на качество слезы: тест Липкоф ( $1,82 \pm 0,2$  мм – стадия 3), проба Норна ( $8,0 \pm 1,46$  сек), свидетельствовавшие о наличии синдрома «сухого глаза» II степени; во 2-й группе – тест Липкоф  $1,31 \pm 0,2$  мм (стадия 2), проба Норна  $8,23 \pm 0,87$  сек (снижение) – синдром «сухого глаза» II степени. Уровень антиоксидантной защиты (экспрессии PRDX6) глазной поверхности зависит от вида аметропии: в 1-й группе до операции ЛАСИК экспрессия PRDX6 в 4,7 раз выше ( $13,57 \pm 0,83$ ), после – в 6,2 раза выше ( $19,31 \pm 0,71$ ), чем во 2-й группе ( $2,88 \pm 0,38$  и  $3,09 \pm 0,47$  соответственно); а также от возраста пациента (до операции): в 1-й группе уровень экспрессии PRDX6 в 1,3 раза меньше, чем в 3-й группе ( $13,57 \pm 0,83$  и  $17,77 \pm 1,03$ ). После операции ЛАСИК изменяется значимость тестов на продукцию и качество слезы. Достоверной во всех группах является проба Норна (синдрома «сухого глаза» II степени).

**Ключевые слова:** рефракция; экспрессия пероксиредоксина 6; ЛАСИК; синдром «сухого глаза».

**Для цитирования:** Ковалевская М.А., Черникова И.В., Подопривога В.С., Сергеева М.И. Протеомные диагностические технологии в рефракционной коррекции аметропий. *Российская педиатрическая офтальмология*. 2017; 12(4): 193-199. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1993-1859-2017-12-4-193-199>

**Для корреспонденции:** Сергеева Мария Игоревна, ассистент кафедры офтальмологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко. E-mail: [misoph@yandex.ru](mailto:misoph@yandex.ru)

*Kovalevskaya M.A.<sup>1</sup>, Chernikova I.V.<sup>2</sup>, Podoprivoga V.S.<sup>1</sup>, Sergeeva M.I.<sup>1</sup>*

## PROTEOMIC DIAGNOSTIC TECHNOLOGIES AND THEIR APPLICATION FOR THE REFRACTIVE CORRECTION OF AMETROPIA

<sup>1</sup> Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, 394000, Voronezh, Russian Federation;  
<sup>2</sup> Dr. Chernikova Eye Centre, 394000, Voronezh, Russian Federation

**Aim.** The objective of the present study was the analysis of the tear fluid proteomic status and the eye surface of the patients presenting with ametropia before and after laser-assisted in situ keratomileusis (LASIK).

**Material and methods.** The study included 163 patients (326 eyes) divided into three groups. Group 1 was comprised of 51 adult patients (102 eyes) at the age from 35 to 54 years suffering from high-degree myopia and astigmatism. Group 2 was composed of 26 adult patients (52 eyes) at the age from 35 to 55 years suffering from moderate or high-degree hyperopia and astigmatism. Group 3 consisted of 86 younger patients (172 eyes) at the age from 18 to 54 years suffering from high-degree myopia and astigmatism. The dry eye syndrome and the state of the cornea were diagnosed with the use of the Lipkof's test, Schirmer's test, TBUT test, and corneal fluorescence staining. The antioxidant activity of the tears was estimated based on the results of measurements of peroxiredoxin-6 (PEDX6) expression.

**Results.** The level of PEDX6 expression after LASIK increased in the patients presenting with myopia by 1.4 times and in those with hyperopia by 1.07 times, that is it changed but slightly after the operation and was 6.2 times less pronounced in comparison with the myopes.

**Conclusion.** The study has demonstrated that two methods proved reliable for the evaluation of the tear fluid proteomic status, viz. the Lipkof's test ( $1.82 \pm 0.2$  mm, stage 3) and the TBUT test ( $8.0 \pm 1.46$  seconds), suggesting the presence of grade 2 dry eye syndrome. The same refers to the patients of group 2: the results of the

Lipkoff's test ( $1.31 \pm 0.2\text{mm}$ ) and the TBUT test ( $8.23 \pm 0.87$  seconds). The level of antioxidant protection of the ocular surface (PEDX6 expression) depended on the type of the refractive error: in the patients of group 1 before and after LASIK, PEDX6 expression was 4.7 times ( $13.57 \pm 0.83$ ) and 6.2 ( $19.31 \pm 0.71$ ) higher  $2.88 \pm 0.38$  and  $3.09 \pm 0.47$ ) than in those of group 2, respectively. In addition, it was shown that the level of antioxidant protection of the ocular surface (PEDX6 expression) depended on the age of the patients prior to LASIK: it was 1.3 lower in group 1 than in group 3 ( $1.35 \pm 0.83$  and  $17.77 \pm 1.03$  respectively). The clinical significance of the tests for the tear fluid production and proteomic status changed appreciably after LASIK. The TBUT test for diagnostics of dry eye syndrome remained reliable in all the groups.

**Keywords:** *refraction; peroxyredoxin-6 expression; Lasik; dry eye syndrome.*

**For citation:** Kovalevskaya M.A., Chernikova I.V., Podoprighora V.S., Sergeeva M.I. Proteomic diagnostic technologies and their application for the refractive correction of ametropia. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya (Russian Pediatric Ophthalmology)* 2017; 12(4): 193-199. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1993-1859-2017-12-4-193-199>

**For correspondence:** *Mariya I. Sergeeva*, assistant, Department of Ophthalmology, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 394000, Voronezh, Russian Federation. E-mail: [misoph@yandex.ru](mailto:misoph@yandex.ru)

**Information about authors:**

Kovalevskaya M.A. <http://orcid.org/0000-0001-88000-5757>

Chernikova I.V. <http://orcid.org/0000-0001-8269-0356>

Podoprighora V.S. <http://orcid.org/0000-0001-8958-6850>

Sergeeva M.I. <http://orcid.org/0000-0002-2085-1772>

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Acknowledgements:** The study had no sponsorship.

Received 15 February 2017

Accepted 30 March 2017

**Введение.** Организация медицинской помощи возрастной группе пациентов с аномалиями рефракции до сих пор остается мало изученной проблемой.

Многообразие алгоритмов эксимерлазерной коррекции первичных аметропий у возрастных пациентов требует создания системы дифференцированных показаний к их проведению, особой подготовки и медикаментозного сопровождения. Несмотря на убедительные данные математического анализа о превалировании в ближайшие десятилетия возрастного населения в популяции, статистика по устранению аметропий среди лиц старше 45 лет с помощью рефракционных хирургических технологий отражает минимальный сегмент в структуре пациентов с нарушениями рефракции. Одним из сдерживающих факторов в принятии решения на проведение рефракционной операции является пресбиопия [1]. Хирургическая коррекция пресбиопии остается одним из самых сложных аспектов рефракционной хирургии. Для ее решения предложено несколько стратегий моделирования топографических профилей роговицы.

Зарубежные исследования последних лет показывают, что биомеханический ответ тканей роговицы на формирование клапана в процессе операции и лазерную абляцию приводит к изменению формы роговицы не только в центре, но и на периферии, а также по задней поверхности, существуют основания к биоптическому подходу выбора коррекции пресбиопии [2]. Арсенал оптических, лазерных и хирургических методов коррекции пресбиопии расширяется с каждым годом. Выбор в пользу лазерных хирургических методов коррекции пресбиопии делается при астигматизме, плохо корригируемом очковыми стеклами, контактными

линзами, и/или их непереносимости, в силу профессиональных или психологических особенностей пациента [3]. Данный аспект, по нашему мнению, зависит, прежде всего, уже от исходных изменений глазной поверхности пациента старше 35 лет. Многочисленные исследования подтверждают возрастание частоты изменений глазной поверхности в старших возрастных группах [4–6], а сама процедура хирургического вмешательства усугубляет эти изменения. В случае формирования сложного топографического профиля для получения мультифокальных свойств у пациентов с пресбиопией, качество глазной поверхности имеет особое значение, поскольку при нестабильной слезной пленке изменяются показатели оптической системы, что приводит к снижению зрительных функций. Анализ динамики максимально корригированной остроты зрения (МКОЗ) в послеоперационном периоде выявил ее снижение на две и более строки при всех модификациях пресбиопических рефракционных вмешательств у 6,5–28% пациентов на срок до шести месяцев. [1, 7–9]. Авторы приписывают потерянные строки в первую очередь усилению синдрома «сухого глаза». Во всех случаях потребовалось дополнительное медикаментозное лечение (инстилляции циклоспорина (Рестасис, Аллерган, США), а также обтурация слезных точек.

Таким образом, изучение особенностей антиоксидантной защиты глазной поверхности у пациентов с аметропией и пресбиопией перед и после рефракционного вмешательства является актуальным.

**Цель исследования:** анализ протеомного статуса слезной жидкости и состояния глазной поверхности у пациентов с аметропиями до и после операции ЛАСИК.

**Материал и методы.** В исследование включены 163 пациента, которым была проведена операция ЛАСИК на базе ГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. У данных пациентов оценивалось состояние глазной поверхности, уровень экспрессии пероксиредоксина 6 до и после операции ЛАЗИК.

В зависимости от вида клинической рефракции пациенты были распределены на 3 группы.

Первую группу составил 51 (102 глаза) пациент зрелого возраста (от 35 до 54 лет) с миопией высокой степени и астигматизмом. Во вторую группу вошло 26 (52 глаза) пациентов зрелого возраста (от 35 до 55 лет) с гиперметропией средней, высокой степени и астигматизмом. Третья группа – группа сравнения – 86 (172 глаза) пациентов молодого возраста (от 18 до 34 лет) с миопией высокой степени и астигматизмом.

Офтальмологическое обследование проводили по общепринятым методикам. Для определения вида клинической рефракции, степени астигматизма использовали автоматический рефрактометр HUMPHREY, для определения толщины роговицы (пахиметрия), а также длины переднезаднего отрезка глаза – ультразвуковую установку OculusRxP (Alcon, США), для кератотопографии – KeratronScout OPTIKON, Италия. Операции производились на эксимер-лазерной системе ESIRIS (SCHWIND, Германия). Для анестезии использовали проксиметакаин 0,5%. Для формирования лоскута применяли микрокератом Carriazo-Pendular (SCHWIND, Германия).

Осуществляли диагностику «сухого глаза» и состояния роговицы (тест Липкоф, тест Ширмера, проба Норна, окраска роговицы флюоресцеином), определяли показатели антиоксидантной активности слезы – экспрессия пероксиредоксина 6 (PRDX6), наличие или отсутствие гамма-глобулина (протеомные технологии). Для иммуноферментного анализа использовали Western-блот. Мажорные белки слезы анализировали методом MALDI-TOF – триптического гидролиза белка в полиакриламидном геле, надгелевый раствор использовали для получения MALDI-масс-спектров. Подготовку образцов для масс-спектрометрии проводили смешиванием на мишени раствора образца и раствора 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, масс-спектры получали на MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex II BRUKER (Германия), оснащенном УФ лазером (Nd) в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона. Идентификацию белков осуществляли при помощи программы Mascot ([www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com)). Поиск проводили в базе данных NCBI среди белков всех организмов с указанной точностью с учетом возможного окисления метионинов кислородом воздуха и возможной модификации цистеинов акриламидом.

Таблица 1

**Результаты тестирования состояния глазной поверхности у пациентов 1-й, 2-й и 3-й групп до операции ЛАСИК**

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Тест Липкоф, мм	1,82 ± 0,60* (стадия 3)	1,39 ± 0,21* (стадия 2)	1,37 ± 0,26* (стадия 2)
Проба Норна, сек	8,0 ± 1,46* (снижение)	8,23 ± 0,87* (снижение)	10,99 ± 1,40* (норма)
Тест Ширмера, мм	12,59 ± 0,88* (1 степень)	11,88 ± 1,27* (1 степень)	17,56 ± 1,24*
Интенсивность окраски роговицы, баллы	2,12 ± 0,47* (средняя)	1,53 ± 0,39* (слабая)	3,02 ± 0,42* (средняя)

Примечание. \* – статистически значимые различия между 1-й, 2-й и 3-й группами ( $p < 0,05$ ).

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft) и BIOSTST. Количественные данные при нормальном распределении признака представлены в виде  $M \pm \sigma$ , где  $M$  – выборочное среднее,  $\sigma$  – стандартное отклонение. В случаях, когда распределение отличалось от нормального, данные были представлены как  $Me$  (медиана), размах показателей (min, max) и интерквартильных размах 25% и 75% перцентилей (25%; 75%).

Сравнение количественных показателей двух связанных выборок при соблюдении условия нормальности распределения проведено с использованием парного  $t$ -критерия Стьюдента, двух не связанных между собой выборок –  $t$ -критерия Стьюдента. Если распределение не являлось нормальным, для анализа связанных выборок использовали критерий Уилкоксона, не связанных выборок –  $U$ -критерий Манна–Уитни. Для сравнения нескольких независимых групп при нормальном распределении использовали дисперсионный анализ, в случаях, когда распределение не было нормальным – критерий Краскала–Уоллиса. Исследование выборки на предмет нормальности распределения проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для установления наличия связи между изучаемыми признаками применяли коэффициент корреляции Пирсона и ранговой корреляции Спирмена. Силу функциональной связи между признаками оценивали по шкале Чертока: при коэффициенте корреляции менее 0,1 считали, что связь отсутствует, при  $r = 0,1-0,3$  – слабая связь,  $0,3-0,5$  – умеренная связь,  $0,5-0,7$  – связь средней силы,  $0,7-0,9$  – сильная связь, более 0,9 – очень сильная связь. При проверке статистических гипотез уровень значимости принимался равным 0,05. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ , высоко достоверными при  $p < 0,01$ .

**Результаты.** Оценка состояния глазной поверхности до операции ЛАСИК представлена в табл. 1.

Таблица 2

**Оценка показателей состояния рефракции, толщины роговицы у пациентов 1-й, 2-й и 3-й групп до операции ЛАСИК**

Обследование	1-я группа (n = 51)	2-я группа (n = 26)	3-я группа (n = 86)
визометрия	0,08 ± 0,02	0,19 ± 0,16	0,086 ± 0,03
визометрия с коррекцией	0,81 ± 0,27	0,72 ± 0,35	0,972 ± 0,078
рефрактометрия	-8,39 ± 2,3	4,52 ± 1,63	-8,35 ± 2,02D*
толщина роговицы, μm	552,3 ± 30,75	561,6 ± 40,3	537,1 ± 29,93

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4, 6: \* – статистически значимые различия между 1-й, 2-й и 3-й группами ( $p < 0,05$ ).

Нами проводилась сравнительная оценка состояния глазной поверхности у пациентов возрастных групп (1-я группа – миопия высокой степени, астигматизм; 2-я группа – гиперметропия высокой, средней степени, астигматизм) и более молодого возраста (3-я группа – миопия высокой степени, астигматизм) до операции ЛАСИК. Пациентам выполнялся тест Липкоф, тест Ширмера, проба Норна и окрашивание роговицы флюоресцеином.

Во всех группах достоверным был тест Липкоф. В 1-й группе он составлял  $1,82 \pm 0,60$  мм (стадия 3), что соответствовало 3 складкам конъюнктивы, тогда как во 2-й и 3-й группах ( $1,39 \pm 0,21$  мм и  $1,37 \pm 0,26$  мм) он соответствовал 2 складкам конъюнктивы. Таким образом, тест Липкоф был наиболее выражен у пациентов с миопией более старшего возраста.

Снижение пробы Норна отмечалось у всех пациентов зрелого возраста (1-я и 2-я группы) и показатели достоверных отличий между ними не было ( $8,0 \pm 1,46$  сек и  $8,23 \pm 0,87$  сек). В 3-й группе (молодые пациенты с миопией) проба Норна была в 1,3 раза выше, чем в 1-й и во 2-й группах ( $10,99 \pm 1,40$  сек).

Тест Ширмера у пациентов 2-й и 3-й групп (зрелый возраст) был несколько снижен ( $12,59 \pm 0,88$  мм и  $11,88 \pm 1,27$  мм), что соответствовало I степени синдрома «сухого глаза». Значение этого показателя у молодых пациентов (3 группы) было в 1,4 раза выше, чем у зрелых, и соответствовало норме.

Признаки повреждения роговицы были выражены незначительно у пациентов зрелого возраста и окраска роговицы флюоресцеином составила  $2,12 \pm 0,47$  баллов (средняя интенсивность) у пациентов 1-й группы и  $1,53 \pm 0,39$  (слабой интенсивности) 2-й. Причем у пациентов с гиперметропией и астигматизмом (2-я группа) этот показатель в 1,4 раз ниже, чем у пациентов с миопией и астигматизмом (1-я группа). У пациентов молодого возраста окраска роговицы была более выражена –  $3,02 \pm 0,42$  (средней интенсивности), что в 1,4

Таблица 3

**Оценка показателей антиоксидантной и иммунной активности слезы у пациентов до операции ЛАСИК**

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Уровень экспрессии PRDX6	$13,57 \pm 0,83^*$	$2,88 \pm 0,38^*$	$17,77 \pm 1,03^*$
Наличие γ-глобулина	отсутствие	отсутствие	отсутствие

раза больше, чем у пациентов 1-й группы и в 1,9 раз – чем во 2-й.

В табл. 2 приведена оценка показателей рефракции, толщины роговицы до операции ЛАСИК.

Оценка толщины роговицы (мкм) проводилась с помощью пахиметрии на А-скане (Alcon). Вид клинической рефракции, степень ее изменения (миопия, гиперметропия), а также степень астигматизма оценивали с помощью рефрактометрии.

Толщина роговицы существенно не отличалась у пациентов первых двух групп: в 1-й группе была не более  $552,3 \pm 30,75$  μm, что на 9 μm меньше, чем во 2-й –  $561,6 \pm 40,3$  μm. В 3-й группе – на 24 μm меньше, чем во 2-й и на 15 μm меньше, чем в 1-й.

Оценка показателей антиоксидантной и иммунной активности слезы у пациентов до операции ЛАСИК см. в табл. 3.

Нами был исследован уровень антиоксидантной защиты у пациентов в данных группах.

Наибольший уровень экспрессии PRDX6 был выявлен у молодых пациентов с миопией и астигматизмом (3-я группа) –  $17,77 \pm 1,03$ . У пациентов зрелого возраста с миопией и астигматизмом (1-я группа) этот показатель был в 1,3 раза ниже ( $13,57 \pm 0,83$ ). Отличалась 2-я группа (пациенты зрелого возраста с гиперметропией и астигматизмом). Уровень экспрессии PRDX6 в ней был в 6,1 раз ниже, чем у молодых пациентов и в 1,3 раза ниже, чем у возрастных пациентов с миопией. Можно сделать вывод, что у миопов уровень антиоксидантной защиты отличается от гиперметропов, а также он изменяется в зависимости от возраста. У пациентов всех групп отсутствовал гамма-глобулин.

**Состояние глазной поверхности после операции ЛАСИК**

Нами проводилась сравнительная оценка состояния глазной поверхности у возрастных пациентов 1-й группы (миопия высокой степени, астигматизм), 2-й (гиперметропия высокой, средней степени, астигматизм), а также молодых пациентов 3-й группы (миопия высокой степени, астигматизм) после операции ЛАСИК. Пациентам двух групп выполнялся тест Липкоф по описанной ранее методике.

Не имела существенного практического значения после ЛАСИК оценка общего объема слезопродукции: тест Ширмера использовался нами

Таблица 4

**Результаты тестирования состояния глазной поверхности у пациентов после операции ЛАСИК**

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Тест Липкоф, мм	1,13 ± 0,59	1,48 ± 0,22	1,57 ± 0,19*
Проба Норна, сек	5,80 ± 1,54 (снижение)	6,53 ± 0,88 (снижение)	6,57 ± 0,79 (снижение)
Тест Ширмера, мм	13,44 ± 1,10	12,55 ± 1,12	18,71 ± 0,96
Интенсивность окраски роговицы, баллы	3,11 ± 0,44 (средняя)	1,95 ± 0,44* (слабая)	3,88 ± 0,48* (средняя)

ограниченно из-за реакции пациентов на тест-полоски после проведения эксимерлазерного вмешательства.

Основным исследованием мы считаем также как и до операции – это проведение пробы Норна (определение времени разрыва слезной пленки). Для этого использовали 1% раствор флюоресцеина в виде полосок офтальмологических диагностических Bio Glo, после чего пациент моргал без сильного сжатия век для распространения флюоресцеина. Далее просили пациента смотреть прямо перед собой, не моргая. Осматривали глаза на щелевой лампе (Racher 255) до появления темных пятен на окрашенной слезной пленке, отмечая при этом время, за которое эти пятна появлялись. Результат оценивали по Lemp, 1995 г., и Abelson, 2002 г. Так же окрашивали роговицы флюоресцеином. В область бульбарной конъюнктивы с помощью диагностических полосок инстиллировали флюоресцеин, после чего пациент моргал без сильного сжатия век для распространения красителя. Далее просили пациента смотреть прямо перед собой. Осматривали глаза на щелевой лампе (Racher 255) до появления окрашенных участков роговицы. Затем определяли интенсивность окраски роговицы по стадиям, описанным ранее.

Общая оценка результатов тестирования количества, качества и стабильности слезы, а также состояния роговицы приведена в табл. 4.

У пациентов 1-й группы отмечалось снижение пробы Норна до  $5,80 \pm 1,54$  сек, что в 1,1 раз ниже, чем у пациентов 2-й и 3-й групп. Интенсивность окраски флюоресцеином роговицы оценивалась в  $3,11 \pm 0,44$  балла, что в 1,6 раз выше, чем у пациентов 2-й группы и в 1,2 раза ниже, чем в 3-й группе. Тест Липкоф и тест Ширмера были мало показательными.

Таким образом, степень выраженности «сухого глаза» после ЛАСИК была выше у возрастных пациентов с миопией 1-й группы.

Оценка показателей рефракции, толщины роговицы после операции ЛАСИК и представлена в табл. 5.

После ЛАЗИК наименьшая толщина роговицы отмечалась у молодых и возрастных пациентов с миопией.

Таблица 5

**Оценка показателей состояния рефракции, толщины роговицы у пациентов 1-й, 2-й и 3-й групп после операции ЛАСИК**

Показатель	1-я группа (n = 51)	2-я группа (n = 26)	3-я группа (n = 86)
Визометрия	0,91 ± 0,22	0,78 ± 0,25	0,92 ± 0,15
Рефрактометрия	0,33 ± 0,87D	0,52 ± 1,83D	0,23 ± 0,91D
Толщина роговицы, $\mu\text{m}$	463,1 ± 41,52	528,4 ± 40,13	454,4 ± 38,93

Во 2-й группе у пациентов с гиперметропией толщина роговицы была в 1,1 раз выше, чем в 1-й и 3-й группах у пациентов с миопией.

Оценку показателей антиоксидантной и иммунной активности слезы после операции ЛАСИК см. в табл. 6.

Для исследования уровня антиоксидантной защиты у пациентов в данных группах нами проводился забор слезной жидкости для исследования белкового состава слезы. Проводили РААГ электрофорез, среднюю концентрацию белка в пробах определяли спектрофотометрически с использованием спектрофотометра Nano-Drop 1000, для дальнейшего иммуноферментного анализа использовали Western-блот. Мажорные белки слезы анализировали методом MALDI-TOF – триптический гидролиз белка в полиакриламидном геле, надгелевый раствор использовали для получения MALDI-масс-спектров. Подготовку образцов для масс-спектрометрии проводили смешиванием на мишени раствора образца и раствора 2,5-дигидроксибензойной кислоты, масс-спектры получали на MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex II BRUKER (Германия), оснащенном УФ лазером (Nd) в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона. Идентификацию белков осуществляли при помощи программы Mascot ([www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com)). Поиск проводили в базе данных NCBI среди белков всех организмов с указанной точностью с учетом возможного окисления метионинов кислородом воздуха и возможной модификации цистеинов акриламидом.

В 1-й группе (миопия высокой степени) у возрастных пациентов отмечалось высокое содержание PRDX6 в слезе  $19,31 \pm 0,71$ , свидетельствующее о достаточном уровне антиоксидантной

Таблица 6

**Оценка показателей антиоксидантной и иммунной активности слезы после операции ЛАСИК**

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Уровень экспрессии PRDX6	19,31 ± 0,71*	3,09 ± 0,47*	19,87 ± 1,05*
Наличие $\gamma$ -глобулина	наличие	наличие	наличие

защиты. Во 2-й группе (гиперметропия высокой, средней степени) содержание PRDX6 возросло слабо и составило  $3,09 \pm 0,47$ . В 3-й группе у молодых пациентов с миопией высокой степени уровень экспрессии PRDX6 –  $19,87 \pm 1,05$  несколько увеличился.

**Обсуждение.** Анализ литературных источников и собственных клинических данных пациентов подтверждает, что адаптация к изменению рефракции с возрастом в большинстве случаев является серьезным испытанием для пациента. Пресбиопия клинически проявляется чаще всего в возрасте между 40 и 45 годами и поражает примерно 31% индивидов этой возрастной группы [10–12]. После 52 лет пресбиопия отмечается практически в 100% случаев. Существует много потенциальных факторов риска, способствующих более раннему развитию пресбиопии [10, 13, 14]. Наиболее важными факторами являются аномалии рефракции: манифестация пресбиопии у лиц с гиперметропией происходит несколькими годами раньше, чем у людей с миопией или эметропией. Но нельзя забывать, что кроме рефракционных изменений происходят срывы метаболических и функциональных резервов у лиц в данной возрастной группе. Так, на возрастное снижение аккомодационных способностей влияют как биомеханические, так и биохимические, физиологические факторы, взаимодействие которых приводит к клиническому проявлению пресбиопии [15–19].

Происходящие с возрастом биохимические изменения вызывают увеличение количества дисульфидных мостиков в молекулах коллагена капсулы и ядра хрусталика, приводя к стабилизации этих молекул благодаря процессу сопряженного пересечения (cross-linking) [20]. Большинство исследователей рассматривают детально процесс изменения аккомодационных механизмов, в то время когда основные ткани глаза, особенно роговица, испытывают воздействие окислительного стресса, который изменяет биомеханические свойства оболочек [14, 21, 22].

В этой связи изучение механизмов антиоксидантной защиты у возрастных пациентов с миопией показало, что уровень экспрессии перокси-редоксина 6 после ЛАСИК повысился в 1,4 раза, у пациентов с гиперметропией – в 1,07 раз, то есть изменился незначительно после операции и был 6,2 раза меньше, чем у миопов.

### Выводы

1. У возрастных пациентов с пресбиопией и аметропией до операции ЛАСИК отмечаются признаки синдрома «сухого глаза». У пациентов 1-й группы достоверными были сразу 2 пробы на качество слезы: тест Липкоф ( $1,82 \pm 0,2$  мм – стадия 3) – соответствовал 3 складкам конъюнктивы, проба Норна ( $8,0 \pm 1,46$  сек) свидетельствовала о наличии синдрома «сухого глаза» II степени; у па-

циентов во 2-й группе – тест Липкоф  $1,31 \pm 0,2$  мм (стадия 2), проба Норна  $8,23 \pm 0,87$  сек (снижение) – синдром «сухого глаза» II степени. Также отмечалось нерезкое снижение показателя теста Ширмера ( $12,59 \pm 0,88$  и  $11,88 \pm 1,27$ ), подтверждающее наличие синдрома «сухого глаза».

2. Уровень антиоксидантной защиты (экспрессии перокси-редоксина 6) глазной поверхности зависит от вида аметропии: у возрастных пациентов с миопией уровень экспрессии PRDX6 до операции ЛАСИК был в 4,7 раз выше ( $13,57 \pm 0,83$ ), после операции – в 6,2 раза выше ( $19,31 \pm 0,71$ ), чем у пациентов с гиперметропией ( $2,88 \pm 0,38$  и  $3,09 \pm 0,47$  соответственно).

3. Уровень антиоксидантной защиты (экспрессии перокси-редоксина 6) глазной поверхности до операции ЛАСИК зависит от возраста пациента: у возрастных пациентов с миопией уровень экспрессии PRDX6 был в 1,3 раза меньше, чем у молодых ( $13,57 \pm 0,83$  и  $17,77 \pm 1,03$ ).

4. После операции ЛАСИК изменяется значимость тестов на продукцию и качество слезы. Достоверной во всех группах является проба Норна, свидетельствующая о наличии синдрома «сухого глаза» II степени.

**Финансирование.** Клиническое исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Cosar C.B., Sener A.B. Supracor hyperopia and presbyopia correction: 6-month results. *Eur. J. Ophthalmol.* 2014; 24(3): 325–9.
2. Костенёв С.В., Литасова Ю.А., Черных В.В. Исследование изменений формы и толщины роговицы после laser in situ keratomileusis (LASIK). *Офтальмохирургия.* 2010; (2): 4–7.
3. Корниловский И.М., Сычев А.Г., Купцова О.Н., Карпов В.Е., Черных Ю.А. Биоптический подход к выбору метода коррекции пресбиопии В кн.: *Тезисы докладов 9-го Съезда офтальмологов России.* М.; 2010; 91.
4. Novae G.D. Symposium on dry eye diagnosis and treatment. *Ophthalmology World News.* 1995; 1(5): 20.
5. Shimmura S., Shimazaki J., Tsubota K. Results of a population-based questionnaire on the Symptoms and lifestyles associated with dry eyes. *Cornea.* 1999; 18: 408–11.
6. Brewitt H., Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem. *Surv. Ophthalmol.* 2001; 45(2): 199–202.
7. Uthoff D., Pözl M., Hepper D., Holland D. A new method of cornea modulation with excimer laser for simultaneous correction of presbyopia and ametropia. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 250: 1649–61.
8. Ryan A., O’Keefe M. Corneal approach to hyperopic presbyopia treatment: six-month outcomes of a new multifocal excimer laser in situ keratomileusis procedure. *J. Cataract Refract. Surg.* 2013; 39: 1226–33.
9. Alió J.L., Chaubard J.J., Caliz A., Sala E., Patel S. Correction of presbyopia by technovision central multifocal LASIK (presby-LASIK). *J. Refract. Surg.* 2006; 22(5): 453–60.
10. Kleinstein R.N. Epidemiology of presbyopia. In: *Stark L., Obrecht G. (Eds.). Presbyopia.* New York: Professional Press; 1987: 12–8.
11. Holden B.A., Fricke T., Ho S., Wong R., Schlenker G., Cronje S. et al. Global vision impairment due to uncorrected presbyopia. *Arch. Ophthalmol.* 2008; 126: 1731–9.
12. Burke A.G., Patel I., Munoz B., Kayongoya A., McHiwa W., Schwarzwald A.W. et al. Population-based study of presbyopia in rural Tanzania. *Ophthalmology.* 2006; 113: 723–7.

13. Рудакова Т.Е. Возрастные особенности аккомодационного аппарата. Особенности эксимер-лазерной коррекции миопии у пациентов старше 40 лет. Коррекция пресбиопии. *Рефракционная хирургия и офтальмология*. 2001; 1(1): 72–9.
14. Michael R., Bron A.J. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. *Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2011; 366(1568): 1278–92.
15. Davson H. *Physiology of the Eye*. 5th Ed. New York: Pergamon Press; 1990; 754–66.
16. Gilmartin B.G. The etiology of presbyopia: A summary of the role of lenticular and extralenticular structures. *Ophthalm. Physiol. Opt.* 1995; 15: 431–7.
17. Kaufman P.L. Accommodation and presbyopia. Neuromuscular and biophysical aspects. In: *Adler's Physiology of the Eye, (Ed. W.M. Hart) 9th Ed.* St. Louis: Mosby – Year Book. 1992; 411–37.
18. Stark L. Presbyopia in light of accommodation. In: *Presbyopia*. Eds. L. Stark, G. Obrecht. New York: Professional Press; 1987: 264–7.
19. Wyatt H.J. Application of a simple mechanical model of accommodation of the aging eye. *Vision Res.* 1993; 33: 731–8.
20. Courtoise Y. The capsule of the crystalline lens. In: *Presbyopia*. Eds. L. Stark, G. Obrecht. New York: Professional Press; 1987: 45–53.
21. Truscott R.J. Presbyopia. Emerging from a blur towards an understanding of the molecular basis for this most common eye condition. *Exp. Eye Res.* 2009; 88: 241–7.
22. Sweeney M.H., Truscott R.J. An impediment to glutathione diffusion in older normal human lenses: a possible precondition for nuclear cataract. *Exp. Eye Res.* 1998; 67: 587–95.
7. Uthoff D., Pözl M., Hepper D., Holland D. A new method of cornea modulation with excimer laser for simultaneous correction of presbyopia and ametropia. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 250: 1649–61.
8. Ryan A., O'Keefe M. Corneal approach to hyperopic presbyopia treatment: six-month outcomes of a new multifocal excimer laser in situ keratomileusis procedure. *J. Cataract Refract. Surg.* 2013; 39: 1226–33.
9. Alió J.L., Chabard J.J., Caliz A., Sala E., Patel S. Correction of presbyopia by technovision central multifocal LASIK (presby-LASIK). *J. Refract. Surg.* 2006; 22(5): 453–60.
10. Kleinstein RN. Epidemiology of presbyopia. In: *Stark L., Obrecht G. (Eds.). Presbyopia*. New York: Professional Press; 1987: 12–8.
11. Holden B.A., Fricke T., Ho S., Wong R., Schlenker G., Cronje S. et al. Global vision impairment due to uncorrected presbyopia. *Arch. Ophthalmol.* 2008; 126: 1731–9.
12. Burke A.G., Patel I., Munoz B., Kayongoya A., McHiwa W., Schwarzwald A.W. et al. Population-based study of presbyopia in rural Tanzania. *Ophthalmology*. 2006; 113: 723–7.
13. Rudakova I.E. Age features of the accommodative apparatus. Features excimer laser correction of myopia in patients older than 40 years. The correction of presbyopia. *Refraktsionnaya khirurgiya i oftal'mologiya*. 2001; 1(1): 72–9. (in Russian)
14. Michael R., Bron A.J. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. *Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2011; 366(1568): 1278–92.
15. Davson H. *Physiology of the Eye*. 5th Ed. New York: Pergamon Press; 1990; 754–66.
16. Gilmartin B.G. The etiology of presbyopia: A summary of the role of lenticular and extralenticular structures. *Ophthalm. Physiol. Opt.* 1995; 15: 431–7.
17. Kaufman P.L. Accommodation and presbyopia. Neuromuscular and biophysical aspects. In: *Adler's Physiology of the Eye, (Ed. W.M. Hart) 9th Ed.* St. Louis: Mosby – Year Book; 1992: 411–37.
18. Stark L. Presbyopia in light of accommodation. In: *Presbyopia*. Eds. L. Stark, G. Obrecht. New York: Professional Press; 1987: 264–7.
19. Wyatt H.J. Application of a simple mechanical model of accommodation of the aging eye. *Vision Res.* 1993; 33: 731–8.
20. Courtoise Y. The capsule of the crystalline lens. In: *Presbyopia*. Eds. L. Stark, G. Obrecht. New York: Professional Press; 1987: 45–53.
21. Truscott R.J. Presbyopia. Emerging from a blur towards an understanding of the molecular basis for this most common eye condition. *Exp. Eye Res.* 2009; 88: 241–7.
22. Sweeney M.H., Truscott R.J. An impediment to glutathione diffusion in older normal human lenses: a possible precondition for nuclear cataract. *Exp. Eye Res.* 1998; 67: 587–95.

## REFERENCES

1. Cosar C.B., Sener A.B. Supracor hyperopia and presbyopia correction: 6-month results. *Eur. J. Ophthalmol.* 2014; 24(3): 325–9.
2. Kostenev S.V., Litasova Yu.A., Chernykh V.V. Study of shape and cornea thickness changes after laser in situ keratomileusis (LASIK). *Oftal'mokhirurgiya*. 2010; (2): 4–7. (in Russian)
3. Kornilovskiy I.M., Sychev A.G., Kuptsova O.N., Karpov V.E., Chernykh Yu.A. Biopic approach to the choice of the presbyopia correction method. In: *Abstracts of the 9th Congress of Russian Ophthalmologists*. Moscow; 2010: 91. (in Russian)
4. Novae G.D. Symposium on dry eye diagnosis and treatment. *Ophthalmol. World News*. 1995; 1(5): 20.
5. Shimmura S., Shimazaki J., Tsubota K. Results of a population-based questionnaire on the Symptoms and lifestyles associated with dry eyes. *Cornea*. 1999; 18: 408–11.
6. Brewitt H., Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem. *Surv. Ophthalmol.* 2001; 45(2): 199–202.

Поступила 15.02.17  
Принята к печати 30.03.17

### Уважаемые авторы и читатели журнала!

Обращаем ваше внимание на то, что мы обновили сайт нашего журнала,  
новый адрес сайта:

**[www.medlit.ru/journalsview/pediatricophthalmology](http://www.medlit.ru/journalsview/pediatricophthalmology)**

Теперь вы можете подписаться через наш сайт на электронную версию журнала  
или купить отдельные статьи по издательской цене.

Для этого нужно пройти простую регистрацию на сайте.