

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-85-91>



# Роль конъюнктивального лимфоангиогенеза в формировании фильтрационных подушек после непроникающей глубокой склерэктомии

Т.Н. Юрьева<sup>1, 2, 3</sup>, Ю.В. Малышева<sup>1</sup> ✉, С.И. Колесников<sup>4</sup>, Н.В. Волкова<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> Иркутский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, ул. Лермонтова, д. 337, Иркутск, 664033, Россия

<sup>2</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Юбилейный мкр-н, д. 100, Иркутск, 664049, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул., Красного Восстания д. 1, Иркутск, 664003, Россия

<sup>4</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», ул. Тимирязева, д. 16, Иркутск, 664003, Россия

**Цель работы** — изучить концентрацию эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF A) в слезной жидкости (СЖ) пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) после непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ) на различных этапах периоперационного периода и провести иммуногистохимическую идентификацию лимфатических структур фильтрационных подушек (ФП) в группах, отличающихся по гипотензивному эффекту операции. **Материал и методы.** На основании критериев клинической эффективности НГСЭ спустя 12 мес после нее пациенты с ПОУГ были разделены на 2 группы: 1-я группа — с наличием гипотензивного эффекта НГСЭ ( $n = 23$ ; средний возраст —  $63,7 \pm 4,4$  года) и 2-я группа — с отсутствием эффекта НГСЭ ( $n = 21$ ,  $64,3 \pm 3,9$  года). Концентрацию VEGF A (121 и 165) в СЖ определяли методом ИФА с использованием набора «VEGF-ИФА-Бест» («Вектор Бест», Россия). Иммуногистохимическое исследование образцов конъюнктивы и субконъюнктивальной ткани проведено через 12–18 мес после НГСЭ у 12 пациентов с ПОУГ и у 8 пациентов без глаукомы (группа контроля) в возрасте  $62,36 \pm 6,31$  года. **Результаты.** Установлены значимые различия в концентрации VEGF A (121 и 165) в СЖ через 2 нед и 2 мес после операции в 2 группах. Избыточное рубцевание ФП сопровождалось исходно низким уровнем VEGF A, его умеренным повышением через 2 нед после операции и значительным подавлением к 2 мес после операции, что значительно отличалось от 1-й группы (двукратное увеличение VEGF A установлено ко 2-му месяцу после операции). В образцах тканей 1-й группы с функциональными диффузными ФП определялось от 5 до 7 сосудов, имеющих лимфатическую принадлежность. В образцах с рубцовыми изменениями ФП лимфатические сосуды не обнаружены. Подопланин определялся в отдельных клетках и сфероподобных образованиях, которые могут представлять собой редуцированные лимфатические сосуды. **Заключение.** Показана важная роль VEGF A в конъюнктивальном лимфоангиогенезе. Подавление конъюнктивального лимфоангиогенеза и последующий «гипотензивный неуспех» НГСЭ у части пациентов на фоне проводимой противовоспалительной и антифиброзной терапии диктуют необходимость ее оптимизации, разработки новых методов лечения, направленных на активацию пролимфоангиогенных факторов.

**Ключевые слова:** непроникающая глубокая склерэктомия; открытоугольная глаукома; лимфатический отток; фильтрационные подушки; конъюнктивальный лимфоангиогенез; иммуногистохимическое исследование

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

**Для цитирования:** Юрьева Т.Н., Малышева Ю.В., Колесников С.И., Волкова Н.В. Роль конъюнктивального лимфоангиогенеза в формировании фильтрационных подушек после непроникающей глубокой склерэктомии. Российский офтальмологический журнал. 2022; 15 (3): 85–91. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-85-91>

# The role of conjunctival lymphangiogenesis in filtering blebs formation after non-penetrating deep sclerectomy

Tatiana N. Yuryeva<sup>1, 2, 3</sup>, Julia V. Malysheva<sup>1</sup> ✉, Sergei I. Kolesnikov<sup>4</sup>, Natalia V. Volkova<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, 337, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russia

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 100, Yubileyny District, Irkutsk, 664049, Russia

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University, 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russia

<sup>4</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 16, Timiryazev St., Irkutsk, 664003, Russia  
mal-julia@bk.ru

**Purpose:** to study the concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF A) in the tear fluid (TF) of patients with primary open-angle glaucoma after non-penetrating deep sclerectomy (NPDS) at different stages of the perioperative period and to perform immunohistochemical identification of the lymphatic structures of filtering blebs in groups differing in the hypotensive effect of the surgery.

**Material and methods.** 12 months after surgery, POAG patients were divided into 2 groups. Group 1 was composed of patients who experienced a hypotensive effect after NPDS ( $n = 23$ ; mean age  $63.7 \pm 4.4$  years), while group 2 had no such effect of NPDS ( $n = 21$ , mean age  $64.3 \pm 3.9$  years). The concentration of VEGF A (121 and 165) in TF was determined by ELISA method (VEGF-ELISA-Best, Vector Best, Russia). Immunohistochemical examination of conjunctival and subconjunctival tissue samples was performed 12 to 18 months after NPDS in 12 POAG patients and 8 patients aged  $62.36 \pm 6.31$  with no glaucoma, which served as a control group. **Results.** Significant differences in the concentration of VEGF A (121 and 165) in TF were found in two groups 2 weeks and 2 months after the surgery. Excessive scarring of filtering blebs was accompanied by an initially low level of VEGF A, its moderate increase 2 weeks after surgery and significant suppression 2 months after surgery, which was significantly different from group 1 (a twofold VEGF A increase has been established toward the second month after surgery). From 5 to 7 vessels with lymphatic character were found in tissue samples of group 1. Podoplanin was found in individual cells and sphere-like formations, which may represent reduced lymphatic vessels. **Conclusion.** The study showed an important role of VEGF A in conjunctival lymphangiogenesis. Suppression of conjunctival lymphangiogenesis and subsequent “hypotensive failure” of glaucoma surgery in some patients who underwent anti-inflammatory and antifibrosis therapy requires optimization, the development of new treatment methods aimed at activating prolymphangiogenic factors.

**Keywords:** non-penetrating deep sclerectomy (NPDS); open-angle glaucoma; lymphatic outflow; filtering blebs; conjunctival lymphangiogenesis; immunohistochemical examination

**Conflict of interests:** there is no conflict of interests.

**Financial disclosure:** no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

**For citation:** Yuryeva T.N., Malysheva J.V., Kolesnikov S.I., Volkova N.V. The role of conjunctival lymphangiogenesis in filtering blebs formation after non-penetrating deep sclerectomy. Russian ophthalmological journal. 2022; 15 (3): 85-91 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-85-91>

В настоящее время, несмотря на многообразие инстилляционных лекарственных препаратов, оказывающих местное гипотензивное действие, а также широкое внедрение лазерных методов лечения глаукомы, наиболее действенным способом борьбы с нарушением гидродинамики глаза по-прежнему остаются антиглаукомные операции фистулизирующего и фильтрующего типа, в результате которых формируется новый, субконъюнктивальный, путь оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) с образованием так называемой фильтрационной подушки (ФП) [1–3]. Многочисленные исследования показали, что важным условием, необходимым для оптимального функционирования ФП, является эффективный, достаточный отток содержащейся в ней внутриглазной влаги [4, 5]. В экспериментальном исследовании с использованием водной ангиографии с индоцианином зеленым и флуоресцеином и оптической когерентной томографии (ОКТ) переднего сегмента доказано наличие субконъюнктивальных и интрасклеральных пространств, являющихся, по мнению ряда авторов, частью анатомических путей оттока водянистой влаги из передней камеры [6–8].

Позднее в других работах были опубликованы ангиографические изображения ФП и сообщающихся с ними субконъюнктивальных клапанных структур. Впоследствии гистологические исследования подтвердили их лимфоидную идентичность. Кроме того, на основании данных водной ангиографии был сделан вывод об отсутствии отводящих лимфоподобных конъюнктивальных структур от субтеноновых отграниченных кистовидных ФП [9].

Несмотря на тот известный факт, что трабекулэктомия и непроникающая глубокая склерэктомия (НГСЭ) являются наиболее эффективными антиглаукомными операциями, практически в каждом втором случае при их проведении не формируются оптимально функциональные ФП, а наблюдается их кистозное перерождение либо формирование обширных плоскостных склероконъюнктивальных сращений, что приводит к нарушению оттока влаги через сформированный канал и повышению внутриглазного давления (ВГД) [10, 11].

Известно, что заживление ран, в том числе хирургических, является сложным динамическим процессом, который находится под постоянным биохимическим контролем

регуляторных молекул, обеспечивающих специфическое взаимодействие между клетками и компонентами внеклеточного матрикса [12, 13], а также ангио- и лимфоангиогенез в ране, что в целом приводит к восстановлению структурной целостности ткани [14–16].

В связи с этим наиболее перспективным для понимания процессов, лежащих в основе формирования функциональных ФП после антиглаукомных операций, представляется изучение роли конъюнктивального лимфоангиогенеза с позиций исследования содержания регуляторных белков [17, 18], в частности эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF), а также иммуногистохимической идентификации лимфатических капилляров в области ФП.

**ЦЕЛЬ** работы — изучить концентрацию VEGF в слезной жидкости (СЖ) пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) после НГСЭ на различных этапах периоперационного периода и провести иммуногистохимическую идентификацию лимфатических структур ФП в группах, отличающихся по гипотензивному эффекту операции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное обследование 44 пациентов с развитой стадией ПОУГ в возрасте 50–70 лет (средний возраст —  $63,6 \pm 4,8$  года) с декомпенсированным уровнем ВГД на фоне максимальной местной гипотензивной медикаментозной терапии, которые были прооперированы методом НГСЭ с обязательным выполнением лазерной десцеметопунктуры в послеоперационном периоде (через 14–18 дней после операции). Все операции выполнялись одним хирургом и имели сопоставимый объем вмешательства.

Обследования и манипуляции проводились в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта.

На основании критериев клинической эффективности НГСЭ [19] спустя 12 мес после операции пациенты с глаукомой были разделены на 2 группы: 1-я группа — с наличием гипотензивного эффекта НГСЭ ( $n = 23$ ; средний возраст —  $63,7 \pm 4,4$  года) и 2-я группа — с отсутствием эффекта НГСЭ ( $n = 21$ ,  $64,3 \pm 3,9$  года).

Критерии включения в 1-ю группу были следующие: 1) ВГД (IOPg)  $\leq 16$  мм рт. ст. без местной гипотензивной терапии и отсутствие прогрессирования глаукомного процесса; 2) пути оттока функциональны, ФП по данным биомикроскопии и ОКТ — диффузная развитая с разреженным внеклеточным матриксом. При несоответствии хотя бы одному из вышеперечисленных критериев больные были отнесены ко 2-й клинической группе.

После НГСЭ пациенты наблюдались в условиях реальной клинической практики, по показаниям получали необходимый и сопоставимый объем противовоспалительной и цитостатической терапии согласно рекомендациям и руководствам по лечению глаукомы [20–22]. Пациенты обеих групп в послеоперационном периоде помимо инстилляционной местной антибактериальной и противовоспалительной терапии (левофлоксацин 0,5 %, дексаметазон 0,1 % и непафенак 0,1 % по убывающей схеме) получали субконъюнктивальные инъекции кортикостероидов и антиметаболитов № 3, им также были проведены микроинвазивные нидлинг-ревизии ФП (№ 3–6) в сроки от 2 до 6 нед после НГСЭ.

Обследование пациентов с ПОУГ проводилось до хирургического лечения, а также через 2 нед, 2 и 12 мес после него. Определяли ВГД (ORA, Reichert, США), оценивали

степень воспалительной реакции глаза по данным биомикроскопии и состояние вновь созданных путей оттока ВГЖ по данным ОКТ (Anterior Segment OCT CASIA2, Tomey).

Уровень VEGF A 165 и 121 определяли в СЖ методом ИФА (с использованием набора «VEGF-ИФА-Бест», «Вектор Бест») в предоперационном периоде, через 2 нед и 2 мес после операции. СЖ в количестве 100 мкл забирали капиллярным методом из нижнего конъюнктивального свода. Для стандартизации результатов исследования за 28 дней все пациенты клинической группы были переведены на единую схему местной медикаментозной терапии (тимолол, бринзоламид/дорзоламид, бримонидин), а за 48 ч до операции ее отменяли.

У 12 пациентов через 12–18 мес после НГСЭ проведено ультраструктурное исследование образцов конъюнктивы и субконъюнктивальной ткани ФП, которые были получены путем иссечения во время повторных оперативных вмешательств. В 8 случаях это были нефункциональные рубцово-измененные ФП (группа 2), в 4 случаях — функциональные, разлитые ФП, со значительным смещением на роговицу или темпоральную/назальную половину глазного яблока, что являлось причиной зрительного и косметического дискомфорта для пациентов и требовало хирургической коррекции (группа 1).

Кроме того, проведено иммуногистохимическое исследование образцов конъюнктивы и субконъюнктивальной ткани пациентов контрольной группы, которая включала 8 мужчин в возрасте  $62,36 \pm 6,31$  года, не страдающих глаукомой и прооперированных по поводу начальной возрастной катаракты методом фактоэмульсификации хрусталика. Во время выполнения хирургического доступа для субтенонновой анестезии были иссечены образцы конъюнктивы и подлежащей субконъюнктивальной ткани достаточного размера в зоне, идентичной расположению ФП. Согласие на исследование было получено у всех пациентов.

Образцы ткани фиксировали непосредственно после их получения в условиях операционной в 3,7 % параформальдегиде. Далее препараты иссекали косыми срезами на отдельные кусочки, трехкратно отмывали от транспортировочной среды и проводили иммуногистохимическое окрашивание на экспрессию ядер клеток (DAPI) и подопланина — маркера эндотелия лимфатических сосудов [23] по отработанному протоколу с помощью первичных (разведение 1:40) и вторичных (разведение 1:2000) антител, меченых Alexa Fluor 488. Ультраструктурное исследование препаратов проводили на лазерном конфокальном микроскопе LSM 710 (Zeiss). Исследуемая ткань анализировалась послойно в виде 2D-срезов, объемных Z-стеков или путем формирования ортогональных проекций выбранных участков.

*Статистическая обработка* результатов клинического исследования проводилась с применением методов непараметрической статистики с расчетом критерия Манна — Уитни. Достоверными считали показатели с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Для характеристики рассеяния в выборке высчитывали медиану (Me) и межквартильный интервал (25/75%-ный процентиль). Сравнительный анализ изменения концентрации регуляторного белка VEGF A 121 и 165 в СЖ проводился с применением способа построения линейных графиков нескольких переменных в программе Statistica.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов обеих групп через 2 нед после НГСЭ произошло умеренное повышение ВГД (таблица) за счет формирования рубцовых склеро-конъюнктивальных сращений по периферии ФП на фоне умеренной и выраженной воспалительной реакции тканей глаза в проекции хирургического

вмешательства. Биомикроскопическими признаками послеоперационной воспалительной реакции глаза являлись: увеличение диаметра конъюнктивальных сосудов, появление штопорообразной извитости вен, наличие сосудистых шунтов и петехиальных конъюнктивальных геморрагий в области ФП (рис. 1).

По данным ОКТ переднего сегмента глаза содержащее ФП представлено сочетанием участков (локусов) рыхлого и жесткого внеклеточного матрикса (ВКМ), что в целом явилось показанием к проведению активной терапии для ограничения воспалительной реакции и процессов пролиферации в области хирургического вмешательства.

В результате проведенного лечения у больных 1-й группы через 2 и 12 мес после операции ВГД было компенсировано без применения дополнительной гипотензивной терапии за счет формирования диффузных ФП с содержимым в виде разреженного, рыхлого ВКМ с множественными щелевидными пространствами (рис. 2).

У пациентов 2-й группы, несмотря на проводимые в послеоперационном периоде лечебные мероприятия, гипотензивный эффект НГСЭ не был достигнут. По данным ОКТ на ранних этапах послеоперационного периода основу ФП составлял жесткий ВКМ (рис. 3), а в сроки 6–12 мес вновь созданные пути оттока ВГЖ подверглись тотальной рубцовой трансформации у всех пациентов.

На следующем этапе работы для реализации поставленной цели проведен сравнительный анализ изменения концентрации VEGF A 121 и 165 в СЖ в периоперационном

периоде. Установлено, что до операции уровень VEGF A в СЖ пациентов 1-й группы в 2 раза превышал значения этого показателя у больных 2-й группы ( $p_{1-2} = 0,001$ ) и в среднем составил 1018 [856; 1409] пг/мл. При этом во всех случаях спустя 2 нед после НГСЭ произошло значительное снижение содержания этого регуляторного белка до 604,0 [452; 705] пг/мл с последующим практически двукратным ростом концентрации VEGF A ко 2-му месяцу послеоперационного периода (1015,0 [826; 1137]) пг/мл ( $p_{1-2} = 0,001$ ) (рис. 4).

Для больных 2-й группы был характерен более низкий исходный уровень VEGF A — 617,0 [503,0–709,0] пг/мл ( $p_{1-2} = 0,001$ ), умеренное повышение концентрации исследуемого фактора в раннем послеоперационном периоде и значительное подавление до 439 [390; 437] пг/мл через 2 мес после НГСЭ, что принципиально отличалось от показателей больных группы сравнения ( $p_{1-2} = 0,001$ ) (рис. 5).

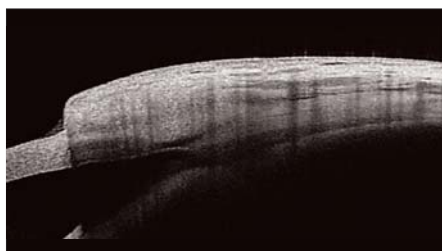
Анализ результатов иммуногистохимического исследования образцов ФП и конъюнктивальной ткани лиц группы контроля позволил выявить значительные различия в количестве лимфатических капилляров. Иммуногистохимическое исследование и лазерная конфокальная микроскопия фрагментов ткани лиц контрольной группы показали наличие от 1 до 2 лимфатических капилляров в нижних слоях лишь в 3 из 8 образцов (рис. 6).

В образцах пациентов 1-й группы с функциональными диффузными ФП определялось от 5 до 7 сосудов с различными вариантами экспрессии подопланина. Наблюдалось равномерное распределение подопланина



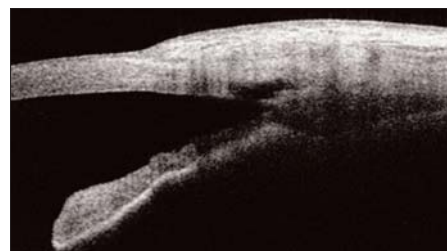
**Рис. 1.** Биомикроскопическая картина воспалительной реакции глаза в области хирургического вмешательства через 2 нед после НГСЭ

**Fig. 1.** Biomicroscopic picture of the eye inflammatory reaction in the area of surgical intervention 2 weeks after nonpenetrating deep sclerectomy



**Рис. 2.** ОКТ функциональной ФП после НГСЭ (Anterior Segment OCT CASIA2)

**Fig. 2.** OCT of a functioning filtering bleb after nonpenetrating deep sclerectomy (Anterior Segment OCT CASIA2)



**Рис. 3.** ОКТ нефункциональной ФП спустя 2 мес после НГСЭ (Anterior Segment OCT CASIA2)

**Fig. 3.** OCT non-functioning filtering bleb two months after nonpenetrating deep sclerectomy (Anterior Segment OCT CASIA2)

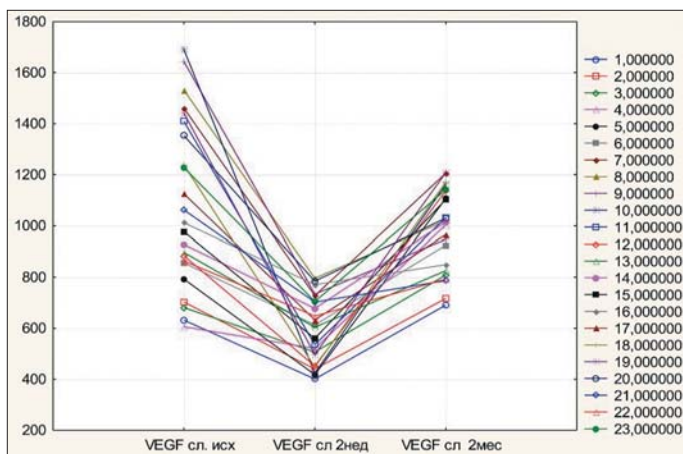
**Таблица.** Уровень ВГД (мм рт. ст.) пациентов с ПОУГ на различных этапах периоперационного периода

**Table.** IOPg (mm Hg) in POAG patients at different stages of perioperative period (nonpenetrating deep sclerectomy)

| Сроки наблюдения<br>Terms of observation               | 1-я группа, медиана IQR<br>1 group,<br>median IQR<br>n = 23 | 2-я группа, медиана IQR<br>2 group,<br>median IQR<br>n = 21 | U-критерий Манна — Уитни<br>Mann — Whitney U test |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| До операции<br>Before surgery                          | 17,1<br>11,5–28,0                                           | 19,9<br>12,2–27,2                                           | $p_{1-2} > 0,05$                                  |
| Через 2 нед после операции<br>2 weeks after surgery    | 18,5*<br>14,1–22,4                                          | 18,6*<br>16,9–20,4                                          | $p_{1-2} > 0,05$                                  |
| Через 2 мес после операции<br>2 months after surgery   | 14,6*<br>12,0–15,4                                          | 16,8<br>15,9–18,3                                           | $p_{1-2} = 0,001$                                 |
| Через 12 мес после операции<br>12 months after surgery | 15,2*<br>12,3–15,8                                          | 19,7<br>16,4–21,6                                           | $p_{1-2} = 0,001$                                 |

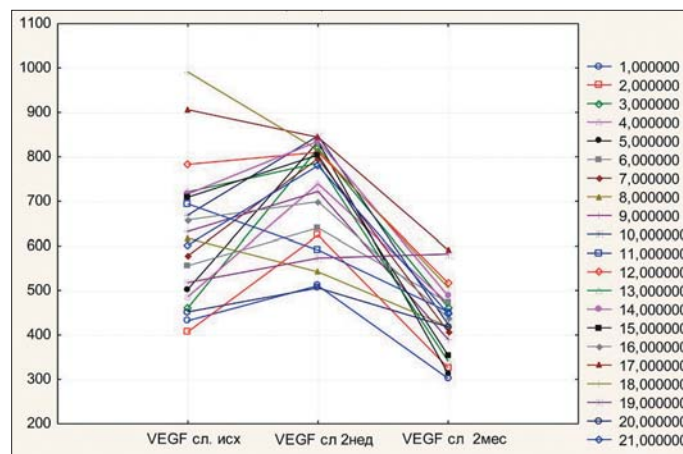
**Примечание.** \* — без дополнительной гипотензивной терапии.

**Note.** \* — without additional hypotensive therapy.



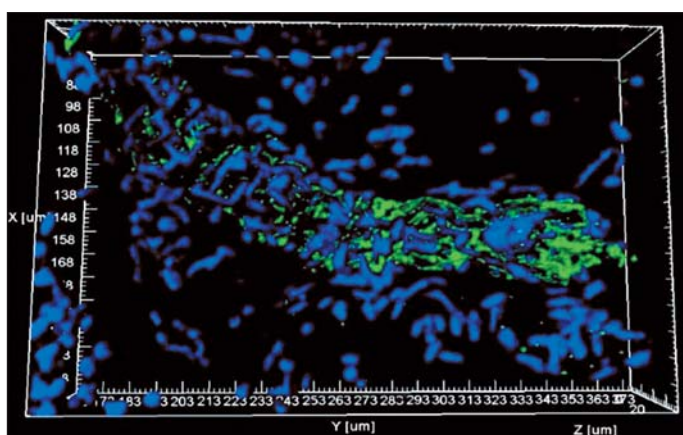
**Рис. 4.** Линейный график изменения концентрации VEGF A в СЖ пациентов 1-й группы в периоперационном периоде

**Fig. 4.** Linear graph of VEGF A concentration changes in the tear of patients of group 1 in the perioperative period



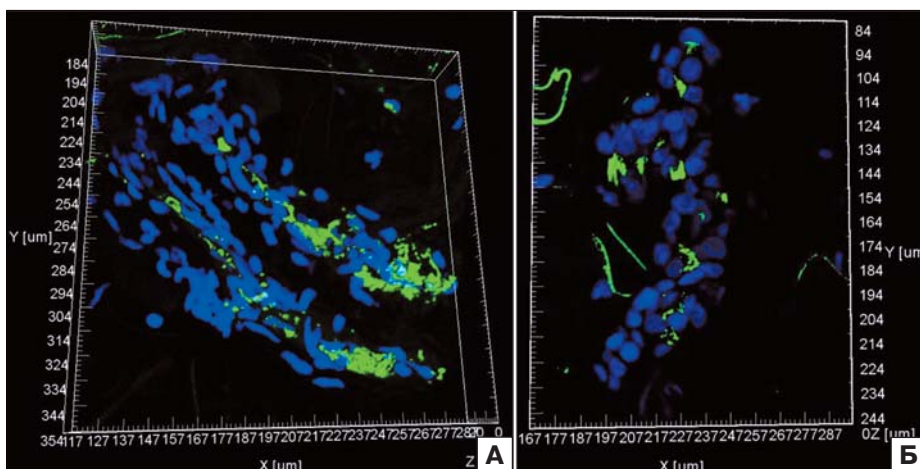
**Рис. 5.** Линейный график изменения концентрации VEGF A в слезе в периоперационном периоде у пациентов 2-й группы

**Fig. 5.** Linear graph of VEGF A concentration changes in the tear of patients of group 2 in perioperative period



**Рис. 6.** Иммуногистохимическое окрашивание конъюнктивы пациента контрольной группы на подоплаин с помощью первичных и вторичных антител, меченых Alexa Fluor 488 (зеленый), и ядер клеток (DAPI, синий); лазерная конфокальная микроскопия. 3D-реконструкция лимфатического сосуда конъюнктивы

**Fig. 6.** Immunohistochemical staining of the conjunctiva on podoplanin using primary and secondary antibodies, labeled Alexa Fluor 488 (green) and cell nuclei (DAPI, blue); laser confocal microscopy. 3D reconstruction of the conjunctival lymphatic vessel of a control group patient



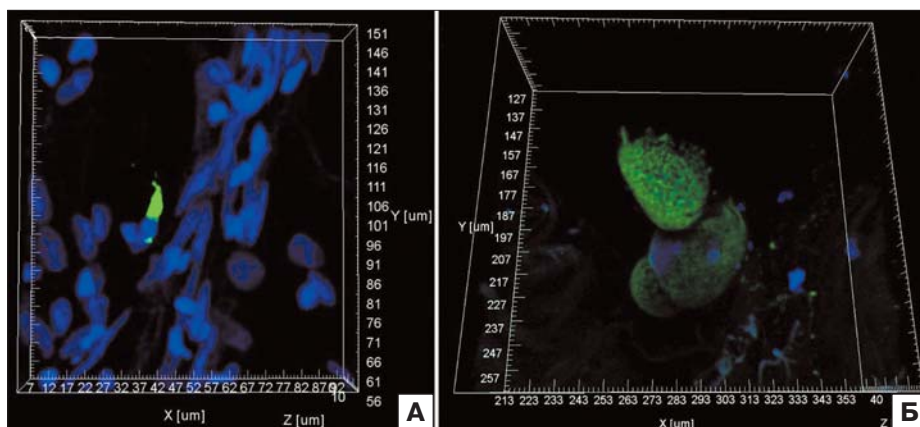
**Рис. 7.** Иммуногистохимическое окрашивание конъюнктивы пациента из 1-й группы на подоплаин с помощью первичных и вторичных антител, меченых Alexa Fluor 488 (зеленый), и ядер клеток (DAPI, синий); лазерная конфокальная микроскопия. Равномерная (А) и локальная (Б) экспрессия подопластина (зеленый) в стенках лимфатических сосудов. 3D-реконструкция продольных сосудов. Подоплаин выделен в режиме «поверхность» в программе Imaris® Bitplane 7.2.3

**Fig. 7.** Immunohistochemical staining of the conjunctiva of 1<sup>st</sup> group patient on podoplanin using primary and secondary antibodies, labeled Alexa Fluor 488 (green) and cell nuclei (DAPI, blue); laser confocal microscopy. Even (A) and local (B) expression of podoplanin (green) in the walls of lymphatic vessels in group 1. 3D reconstruction of longitudinal vessels. Podoplanin is highlighted in the "surface" mode in the Imaris® Bitplane 7.2.3 program

вдоль сосуда (рис. 7, А) либо его локальная экспрессия в отдельных участках, вероятно, связанная с анатомическими изгибами сосуда (рис. 7, Б). У пациентов 2-й группы с нефункциональными, рубцово-измененными ФП ни в одном случае лимфатические сосуды не были выявлены. Определились лишь единичные клетки с достаточным уровнем экспрессии подопластина (рис. 8, А) и отдельные сфероподобные образования, в стенках которых локализованы ядра и очень большое количество подопластина (рис. 8, Б), возможно, представляющие собой редуцированные лимфатические сосуды.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что VEGF A представляет собой регуляторный белок, который специфически действует на эндотелиальные клетки и оказывает различные эффекты, включая опосредованное повышение проницаемости сосудов, индукцию васкулогенеза, рост эндотелиальных клеток, стимулирование миграции клеток, а также ингибирование апоптоза [24].



**Рис. 8.** Иммуногистохимическое окрашивание конъюнктивы пациента из 2-й группы на подопланин с помощью первичных и вторичных антител, меченых Alexa Fluor 488 (зеленый), и ядер клеток (DAPI, синий); лазерная конфокальная микроскопия, 3D-реконструкция: А — отдельная клетка с высокой экспрессией подопланина; Б — участок лимфатического сосуда (предположительно редуцированный лимфатический сосуд в виде сферы); высокое содержание подопланина (зеленый). Хорошо видны два ядра (синий цвет) в стенке сосуда. Ядра клеток выделены в режиме «поверхность» в программе Imaris® Bitplane 7.2.3

**Fig. 8.** Immunohistochemical staining of the conjunctiva of 2<sup>nd</sup> group patient on podoplanin using primary and secondary antibodies, labeled Alexa Fluor 488 (green) and cell nuclei (DAPI, blue); laser confocal microscopy. 3D reconstruction: A — a single cell with high expression of podoplanin; B — a section of a lymphatic vessel (presumably a reduced lymphatic vessel in the form of a sphere); high content of podoplanin (green). Two cores (blue) in the vessel wall are clearly visible. Cell nuclei are isolated in the "surface" mode in the Imaris® Bitplane 7.2.3 program

Согласно недавним исследованиям, процессы лимфоангиогенеза лежат в основе образования функциональной ФП после антиглаукомной операции [25, 26]. В связи с этим формирование диффузных функциональных ФП в ответ на противовоспалительную и антифиброзную терапию у пациентов 1-й группы, вероятно, связано с исходно высоким содержанием VEGF A, небольшим снижением его концентрации через 2 нед, которое сменилось пиковым подъемом и активным ростом лимфатических сосудов на поздних этапах послеоперационного периода. В свою очередь, подавление уровня VEGF A у пациентов 2-й группы через 2 мес после НГСЭ может обуславливать недостаточность конъюнктивального лимфоангиогенеза и позволяет предположить важную роль этого регуляторного белка в механизмах формирования функциональной ФП после НГСЭ в целом.

С учетом имеющихся данных о том, что лимфатические сосуды могут редуцироваться, если длительно не выполняют свои функции [27], единичные клетки и микросферы с повышенной экспрессией подопланина в некоторых образцах нефункциональных ФП, подвергшихся рубцовой трансформации, можно рассматривать как редуцированные лимфатические сосуды.

Таким образом, учитывая множественные векторы биологического действия VEGF A, можно предположить, что вариабельность его содержания в СЖ в послеоперационном периоде обусловлена активностью как лимфоангиогенеза, так и гемангиогенеза, всегда сопутствующего пролиферативной фазе воспалительного процесса, а также влиянием противовоспалительной терапии, подавляющей провоспалительные факторы, являющиеся активатором васкулогенеза [28].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали важную роль VEGF A в конъюнктивальном лимфоангиогенезе, который является одним из ключевых механизмов формирования функциональных ФП. Подавление конъюнктивно-

го лимфоангиогенеза и последующий «гипотензивный неуспех» антиглаукомной операции у части пациентов на фоне проводимой противовоспалительной и антифиброзной терапии диктуют необходимость ее оптимизации, а также разработки новых методов лечения, направленных на активацию пролимфоангиогенных факторов.

## Литература/References

1. Chang L., Cheng Q., Lee D.A. Basic science and clinical aspects of wound healing in glaucoma filtering surgery. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 1998; 14 (1): 75–95. doi: 10.1089/jop.1998.14.75
2. Авдеев П.В., Александров А.С., Басинский А.С. и др. Клиническое многоцентровое исследование эффективности синустрабекулэктомии. *Глаукома.* 2013; 2: 53–60. [Avdееv P.V., Aleksandrov A.S., Basinskij A.S., et al. Clinical multicenter study of trabeculectomy efficacy. *Glaukoma.* 2013; 2: 53–60 (in Russian)].
3. Goldsmith J.A., Ahmed I.K., Crandall A.S. Nonpenetrating glaucoma surgery. *Ophthalmol. Clin. North. Am.* 2005; 18 (3): 443–60. doi: 10.1016/j.ohc.2005.05.008
4. Akiyama G., Sarawathy S., Bogarina Th., et al. Functional, structural, and molecular identification of lymphatic outflow from subconjunctival blebs. *Exp. Eye Res.* 2020 Jul; 196: 108049. doi: 10.1016/j.exer.2020.108049
5. Khoo Y.J., Abdullah A.A.H., Yu D.Y., et al. Use of trypan blue to assess lymphatic function following trabeculectomy. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2019; 47 (7): 892–7. doi: 10.1111/ceo.13534
6. Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатов Н.П. и др. Роль лимфатической системы в увеосклеральном оттоке внутриглазной жидкости. *Офтальмохирургия.* 2015; 2: 74–9. [Chernyh V.V., Borodin Ju.I., Bgatova N.P., et al. The role of the lymphatic system in the uveoscleral outflow of aqueous humor. *Oftal'mokhirurgija.* 2015; 2: 74–9. https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=34088840&selid=23932385; 2: 74–9 (in Russian)].
7. Bouhenni R.A., Al Jadaan I., Rassavong H., et al. Lymphatic and Blood Vessel Density in Human Conjunctiva After Glaucoma Filtration Surgery. *J. Glaucoma.* 2016; 25 (1): e35–8. doi: 10.1097/IJG.000000000000199
8. Huang A.S., Sarawathy S., Dastiridou A., et al. Aqueous Angiography with Fluorescein and Indocyanine Green in Bovine Eyes. *Transl. Vis. Sci. Technol.* 2016; 5 (6): 5. doi: 10.1167/tvst.5.6.5
9. Huang A.S., Sarawathy S., Dastiridou A., et al. Aqueous angiography-mediated guidance of trabecular bypass improves angiographic outflow in human enucleated eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2016; 57 (11): 4558–65. doi: 10.1167/iovs.16-19644
10. Егоров А.В., Гордничий В.В., Петров С.Ю. и др. Ранние и отдаленные результаты хирургического лечения глаукомы (результаты многоцентрового исследования стран СНГ). *РМЖ. Клиническая офтальмология.* 2017; 17 (1): 25–34. [Egorov A.V., Gordnichij V.V., Petrov S.Ju., et al. Early and long-term outcomes of glaucoma surgery the results of multicenter study in CIS countries. *RMZh. Klinicheskaja oftal'mologija.* 2017; 17 (1): 25–34 (in Russian)]. doi: 10.21689/2311-7729-2017-17-1-25-34
11. Петров С.Ю. Современная концепция борьбы с избыточным рубцеванием после фистулизирующей антиглаукомной операции. Факторы риска и антимаболические препараты. *Офтальмология.* 2017; 14 (1): 5–11. [Petrov S.Ju. Modern methods of controlling wound healing after fistulizing glaucoma surgery. Risk factors and antimetabolites. *Oftal'mologija.* 2017; 14 (1): 5–11 (in Russian)]. doi: 10.18008/1816-5095-2017-1-5-11
12. Захидов А.Б., Селезнев А.В., Газизова И.Р. и др. Интраоперационное применение антимаболических препаратов в хирургии глаукомы. *Национальный журнал глаукома.* 2020; 19 (1): 40–5. [Zahidov A.B., Seleznev A.V., Gazizova I.R., et al. Intraoperative use of antimetabolites in glaucoma surgery. *Nacional'nyj zhurnal glaukoma.* 2020; 19 (1): 40–5 (in Russian)]. doi: 10.25700/NJG.2020.01.06
13. Петров С.Ю., Волжанин А.В., Рыжкова Е.Г. и др. Сравнительный анализ анатомо-топографических и рефракционных изменений после операций фильтрующего и фистулизирующего типов. *Национальный журнал глаукома.* 2020; 19 (2): 23–9. [Petrov S.Ju., Volzhanin A.V., Ryzhkova E.G., et al. Comparison of the anatomical, topographic and refractive shift in the eyes after the penetrating and non-penetrating glaucoma surgery. *Nacional'nyj zhurnal glaukoma.* 2020; 19 (2): 23–9 (in Russian)]. doi: 10.25700/NJG.2020.02.03

14. Волкова Н.В., Шуко А.Г., Малышев В.В. Ретроспективный анализ факторов риска развития рубцовых изменений путей оттока внутриглазной жидкости после фистулизирующих антиглаукоматозных операций. Сообщение 1. Глаукома. 2010; 3: 35–40. [Volkova N.V., Shchuko A.G., Malyshev V.V. Retrospective analysis of risk factors of intraocular fluid outflow pathways scar development after fistulizing antiglaucomatous surgery. Report 1. Glaucoma. 2010; 3: 35–40 (in Russian)].
15. Волкова Н.В., Шуко А.Г., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н. Неадекватная репаративная регенерация в фистулизирующей хирургии глаукомы. Офтальмохирургия. 2014; 3: 60–6. [Volkova N.V., Shchuko A.G., Malysheva Ju.V., Yuryeva T.N. Inadequate reparative regeneration in fistulizing glaucoma surgery. Oftal'mohirurgiya. 2014; 3: 60–6 (in Russian)].
16. Chester D., Brown A.C. The role of biophysical properties of provisional matrix proteins in wound repair. Matrix Biol. 2017; Jul.: 124–40. doi: 10.1016/j.matbio.2016.08.004
17. Stepanova O.I., Krylov A.V., Lioudyno V.I. Gene expression for VEGF-A, VEGF-C, and their receptors in murine lymphocytes and macrophages. Biochemistry (Mosc). 2007; 72 (11): 1194–8. doi: 10.1134/s0006297907110041
18. Арутюнян И.В., Кананыхина Е.Ю., Макаров А.В. Роль рецепторов VEGF-A165 в ангиогенезе. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2013; VIII (1): 12–8. [Arutjunjan I.V., Kananyhina E.Ju., Makarov A.V. The role of VEGF-A165 receptors in angiogenesis. Cell transplantation and tissue engineering. 2013; VIII (1): 12–8 (in Russian)].
19. Колесников С.И., Юрьева Т.Н., Малышева Ю.В. и др. Клинико-иммунологическая оценка эффективности непроникающей глубокой склерэктомии в раннем послеоперационном периоде. Acta Biomedica Scientifica. 2019; 4 (4): 70–6. [Kolesnikov S.I., Jur'eva T.N., Malysheva Ju.V., et al. Clinical and immunological evaluation of the effectiveness of non-penetrating deep sclerectomy in the early postoperative period. Acta Biomedica Scientifica. 2019; 4 (4): 70–6 (in Russian)]. doi.org/10.29413/ABS.2019-4.4.10
20. Клинические рекомендации. Глаукома, ПОУГ, 2020. ЭСАВОГ. [Clinical recommendations. Glaucoma, POAG, 2020. ESAVOG. (in Russian)]. Available at: <http://avo-portal.ru/doc/fkr/odobrennye-nps-i-utverzhdennye-avo/item/246-glaukoma-otkrytougolnaya>
21. Петров С.Ю. Современная концепция борьбы с избыточным рубцеванием после фистулизирующей хирургии глаукомы. Противовоспалительные препараты и новые тенденции. Офтальмология. 2017; 14 (2): 99–105. [Petrov S.Ju. Modern methods of controlling wound healing after fistulizing glaucoma surgery. Anti-inflammatory drugs and new trends. Oftal'mologiya. 2017; 14 (2): 99–105 (in Russian)]. doi: 10.18008/1816-5095-2017-2-99-105
22. Петров С.Ю., Сафонова Д.М. Эффективность нидлинга в пролонгации отдаленного гипотензивного эффекта синустрабекулэктомии. Современные технологии в офтальмологии. 2020; 35 (4): 142–3. [Petrov S.Ju., Safonova D.M. Efficacy of bleb needling after trabeculectomy. Sovremennye tehnologii v oftal'mologii. 2020; 35 (4): 142–3 (in Russian)]. doi: <https://doi.org/10.25276/2312-4911-2020-4-142-143>
23. Бгатова Н.П., Куликова И.С., Ломакин А.И. и др. Сравнительный анализ экспрессии молекулярных маркеров лимфатических сосудов LYVE-1 и подопланин при раке нижней губы и меланоме кожи. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013; 33 (6): 79–85. [Bgatova N.P., Kulikova I.S., Lomakin A.I., et al. Comparative analysis of expression of molecular markers of lymphatic vessels LYVE-1 and podoplanin at the lower lip cancer and skin melanoma. Bjulleten' Sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii medicinskih nauk. 2013; 33 (6): 79–85 (in Russian)].
24. Achen M.G., Stacker S.A. Molecular control of lymphatic metastasis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008; 1131: 225–34. doi: 10.1196/annals.1413.020
25. Yücel Y.H., Johnston M.G., Ly T., et al. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: a novel "uveolymphatic" outflow pathway. Exp. Eye Res. 2009; 89 (5): 810–9. doi: 10.1016/j.exer.2009.08.010
26. Huang A.S., Penteado R.C., Saha S.K., et al. Fluorescein aqueous angiography in live normal human eyes. J. Glaucoma. 2018; 27 (11): 957–64. doi: 10.1097/IJG.0000000000001042
27. Grüntzig J., Hollmann F. Lymphatic vessels of the eye — old questions — new insights. Ann. Anat. 2019; 221 (Jan.): 1–16. doi: 10.1016/j.aanat.2018.08.004
28. Шамитова Е.Н., Сымулова И.С., Леванова М.М., Кашеварова Э.А. Механизмы и факторы ангиогенеза. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019; 9: 30–4. [Shamitova E.N., Symulova I.S., Levanova M.M., Kashevarova E.A. Mechanisms and factors of angiogenesis. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. 2019; 9: 30–4 (in Russian)].

**Вклад авторов в работу:** Т.Н. Юрьева — разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи и редактирование, разработка методологии, руководство исследованием; Ю.В. Малышева — проведение исследования, написание текста статьи и редактирование, обзор литературы, подготовка и сбор данных, подготовка черновика статьи и финальная подготовка статьи к публикации, статистическая обработка данных и их интерпретация; С.И. Колесников — проведение исследования, финальная подготовка статьи к публикации, статистическая обработка данных и их интерпретация; Н.В. Волкова — проведение исследования, обзор литературы, подготовка и сбор данных, подготовка черновика статьи.

**Author's contribution:** T.N. Yuryeva — concept and study design, writing and editing of the article, developing of the methodology, project supervising; Yu.V. Malysheva — performing of the research, writing and editing of the article, literature review, data collection and analysis, writing the draft of the article, performing of the research, final preparation of the article for the publication, data collection, analysis and interpretation; S.I. Kolesnikov — performing of the research, final preparation of the article for the publication, data collection, processing and interpretation; N.V. Volkova — performing of the research, literature review, data collection and analysis, preparation of the draft of the article.

Поступила: 26.01.2022. Переработана: 29.01.2022. Принята к печати: 31.01.2022

Originally received: 26.01.2022. Final revision: 29.01.2022. Accepted: 31.01.2022

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

<sup>1</sup> Иркутский филиал ФГАУ «МНТК "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, ул. Лермонтова, д. 337, Иркутск, 664033, Россия

<sup>2</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, мкр-н Юбилейный, д. 100, Иркутск, 664049, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Красного Восстания, д. 1, Иркутск, 664003, Россия

**Татьяна Николаевна Юрьева** — д-р мед. наук, профессор, заместитель директора по научной работе<sup>1</sup>, профессор кафедры офтальмологии<sup>2</sup>, профессор кафедры глазных болезней<sup>3</sup>

**Юлия Витальевна Малышева** — врач-офтальмолог<sup>1</sup>

**Наталья Васильевна Волкова** — канд. мед. наук, заведующая научно-образовательным отделом<sup>1</sup>, доцент кафедры офтальмологии<sup>2</sup>, доцент кафедры глазных болезней<sup>3</sup>

**ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»**, ул. Тимирязева, д. 16, Иркутск, 664003, Россия

**Сергей Иванович Колесников** — академик РАН, д-р мед. наук, профессор, заместитель главного ученого секретаря президиума РАН, советник РАН

**Для контактов:** Юлия Витальевна Малышева,  
mal-julia@bk.ru

<sup>1</sup> Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, 337, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russia

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education — Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 100, Yubileyny District, Irkutsk, 664049, Russia

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University, 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russia

**Tatiana N. Yuryeva** — Dr. of Med. Sci., professor, deputy director for science<sup>1</sup>, professor of chair of ophthalmology<sup>2</sup>, professor of chair of eye diseases<sup>3</sup>

**Julia V. Malysheva** — ophthalmologist<sup>1</sup>

**Natalia V. Volkova** — Cand. of med. Sci., head of scientific and educational department<sup>1</sup>, associate professor, chair of ophthalmology<sup>2</sup>, associate professor, chair of eye diseases<sup>3</sup>

**Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems**, 16, Timiryazev St., Irkutsk, 664003, Russia

**Sergei I. Kolesnikov** — academician of the Russian Academy of Sciences, Dr of Med. Sci., professor, deputy chief of scientific secretary of the presidium of the Russian Academy of Sciences, counselor of the Russian Academy of Sciences

**Contact information:** Julia V. Malysheva,  
mal-julia@bk.ru