

Современная концепция избыточного рубцевания в хирургии глаукомы



Петров С. Ю.



Сафонова Д. М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Научно-исследовательский институт глазных болезней, ул. Россолимо, д. 11а, Москва, Российская Федерация, 119021

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2015; 12 (4): 9–16

Послеоперационное рубцевание является одним из ключевых факторов, определяющих успех фильтрующей хирургии в отдаленном периоде. Рубцевание тканей — физиологический ответ организма, направленный на восстановление тканевой структуры и функций посредством ряда взаимосвязанных клеточных процессов. Хирургическая травма способствует проникновению белков плазмы крови в зону фильтрации внутриглазной жидкости, запуску каскада реакций свертывания и активации комплемента. Процесс заживления раны делится на три взаимосвязанных этапа: воспаление, пролиферация и ремодуляция рубца. Воспаление считается защитным ответом на повреждение, позволяющим сохранить структурную целостность и клеточные функции тканей. Оно характеризуется поступлением в рану нейтрофилов и моноцитов. Нейтрофилы фагоцитируют инфицирующие рану бактерии и очищают зону повреждения. Макрофаги способствуют санации раневой полости, участвуют в фагоцитозе и вырабатывают ряд факторов, необходимых для формирования новой ткани. В ходе пролиферативной фазы происходит реэпителизация и формирование грануляционной ткани с высвобождением факторов роста, стимулирующих образование внеклеточного матрикса и пролиферацию фибробластов. Завершающий этап заживления раны характеризуется ремоделированием матрикса с очищением раны благодаря одновременному синтезу и разрушению компонентов матрикса, дифференцировкой клеток, их созреванию и апоптозом. Нарушение апоптоза удлинит срок жизни фибробластов и способствует избыточному рубцеванию. Считается, что ключевую роль в рубцевании различных тканей играют три фактора роста: трансформирующий фактор роста β , фактор роста соединительной ткани, сосудистый эндотелиальный фактор роста. Представлен обзор их изоформ, роли в процессе рубцевания и возможности их ингибирования в лечебных целях. Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство белков, которые способны расщеплять компоненты внеклеточного матрикса. Предположительно, они играют ключевую роль в контрактуре фильтрационной подушки за счет своего влияния на фибробласты теноновой капсулы. Селективное ингибирование металлопротеиназ после фильтрующей хирургии глаукомы оказывает превентивное действие на стягивание фильтрационной подушки в послеоперационном периоде, позволяя уменьшить вероятность неудачного исхода.

Ключевые слова: рубцевание, заживление раны, воспаление, пролиферация, ремоделирование, трансформирующий фактор роста β , фактор роста соединительной ткани, сосудистый эндотелиальный фактор роста, металлопротеиназы.

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

Конфликт интересов отсутствует.

ENGLISH

The modern concept of wound healing in glaucoma surgery

Petrov S. Yu., Safonova D. M.

Research Institute of Eye Diseases, 11A/B, Rossolimo St., Moscow, Russian Federation, 119021

SUMMARY

Post-operative wound healing is one of the key-factors, defining success of filtering surgery in late post-operative period. Wound healing is a physiological response directed at tissue structure reconstruction and function restoration, performed by several interacting cellular pathways. Surgical trauma leads to plasma proteins penetration to the filtration

zone, as well as coagulation pathway and complement activation. The process of wound healing can be divided into three interconnected stages: inflammation, proliferation and scar remodeling. Inflammation is a protective response to tissue damage, that helps preserve its structure and cellular functions. It is characterized by neutrophil and monocyte arrival at the wound site. Neutrophils phagocytose the wound infecting bacteria and clean the wound site. Macrophages aid wound cleansing, participate in phagocytosis and produce a range of factors, necessary for new tissue formation. Proliferation stage consists of reepithelization and granulation tissue formation, which is accompanied by growth factors release. The growth factors stimulate the extracellular matrix formation and fibroblast proliferation. The last stage of the wound healing process is characterized by extracellular matrix remodeling with wound debridement achieved by a simultaneous synthesis and destruction of certain matrix components, cell differentiation, maturation and apoptosis. Apoptosis disturbance prolongs the fibroblast cell life and promotes excessive scarring. Three growth factors are thought to play a pivotal role in tissue healing and scarring transforming growth factor β , connective tissue growth factor and vascular endothelial growth factor. The article contains a review of their isoforms, role in wound healing and the possibility of their inhibition to alter the process. Matrix metalloproteinases are a protein family that can digest extracellular matrix components. Due to their influence on the tenon's capsule fibroblasts, they supposedly play a key role in bleb contraction. Metalloproteinases selective inhibition after glaucoma filtration surgery can serve as a preventive measure against postoperative bleb constriction, which in turn enhances the likelihood of postoperative success.

Keywords: wound healing, scarring, inflammation, proliferation, remodeling, transforming growth factor, connective tissue growth factor and vascular endothelial growth factor, metalloproteinases.

Financial disclosure: Authors have no financial or property interests related to this article. The authors declare that there are no conflicts of interest.

There is no conflict of interests.

Ophthalmology in Russia. 2015; 12 (4): 9–16

Согласно IV изданию европейского глаукомного руководства, послеоперационное рубцевание путей оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) является одним из ключевых факторов, определяющих успех фильтрующей хирургии в отдаленном периоде [1]. Факторами риска рубцевания конъюнктивы являются молодой возраст, воспалительные заболевания глаза, продолжительная местная медикаментозная терапия с использованием нескольких препаратов, афакия, интраокулярная хирургия менее 3 месяцев назад, операции с разрезами конъюнктивы, неэффективная фильтрационная хирургия глаукомы, неоваскулярная глаукома [1]. Для достижения желаемого уровня внутриглазного давления (ВГД) и продления послеоперационного гипотензивного эффекта нередко возникает необходимость регулирования процесса заживления раны.

Рубцевание тканей — физиологический ответ организма, направленный на восстановление тканевой структуры и функций посредством ряда взаимосвязанных клеточных процессов. Хирургическая травма конъюнктивы, эписклеры, склеры и радужки способствует проникновению белков плазмы крови в зону фильтрации ВГЖ, запуску каскада реакций свертывания и активации комплемента [2]. Эффекторными клетками в образовании субконъюнктивального рубца являются фибробласты [3]. Тромбоциты встраиваются в сеть фибриновых волокон, образуя тромб, формирование которого обеспечивает гемостаз и предоставляет временную основу для миграции воспалительных клеток и фибробластов [3, 4]. Классической схемой, отражающей сроки процессов рубцевания после глауком-

ной хирургии, считается диаграмма по Sharaawy T. M. с соавт., приведенная на рис. 1 [5].

Процесс заживления раны можно разделить на три тесно взаимосвязанных этапа: воспаление, пролиферация и ремодуляция рубца. Ниже будут описаны концепции указанных процессов.

Воспалительная фаза

Воспаление считается локальным защитным ответом на повреждение, позволяющим сохранить структурную целостность и клеточные функции тканей. В начале воспалительной фазы в рану поступают нейтрофилы и моноциты. Доказано, что нейтрофилы появляются в зоне повреждения через считанные минуты после травмы и достигают максимальной концентрации в субконъюнктиве на второй день [3, 6]. Протеолитические ферменты (коллагеназа и эластаза) высвобождаются активированными нейтрофилами, в свою очередь, способствуя их проникновению в базальную мембрану эндотелия. Нейтрофилы фагоцитируют инфицирующие рану бактерии и очищают зону повреждения за счет переработки внеклеточного матрикса.

Макрофаги в зоне повреждения появляются из локальных запасов и дифференцируются из циркулирующих в крови моноцитов. Накопление моноцитов стимулируется наличием моноцитарных хемоаттрактантов, таких как фрагменты коллагена и трансформирующий фактор роста β (TGF- β) [7]. Переносимые кровью моноциты поступают в рану и связываются с внеклеточным матриксом. Макрофаги способствуют санации раневой полости, участвуют в фагоцитозе и вы-

рабатывают ряд растворимых факторов, необходимых для формирования новой ткани и перехода от стадии воспалительного ответа к регенерации. Тканевые макрофаги являются источником таких провоспалительных факторов роста, как фактор роста тромбоцитов (platelet-derived growth factor, PDGF), фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor, FGF), эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF) и, упомянутый выше, TGF- β . В отличие от нейтрофилов, наличие макрофагов необходимо для нормального заживления раны, поскольку они помогают регулировать этот процесс, как посредством изменения цитокинового профиля окружающей среды, так и за счет взаимодействия с лимфоцитами и фибробластами. Они обеспечивают нормальный запуск и дальнейшее поддержание активности фибробластов [8, 9]. В ранах, обсеянных макрофагами, наблюдается задержка в формировании и снижение общего количества грануляционной ткани [10]. По данным иммуногистохимического исследования по заживлению конъюнктивы после трабекулэктомии у крыс Sheridan C. выявил обширные включения макрофагальных клеток, существовавшие на протяжении всего процесса лечения, что позволило предположить роль макрофагов в заживлении конъюнктивы [11]. Согласно Barbul A. и Chang L. для нормального процесса заживления раны также необходимы Т-лимфоциты [8, 12]. Предполагается, что они играют двойственную роль, стимулируя фибробласты, макрофаги и эндотелиальные клетки на ранних стадиях процесса, но, однако, подавляя репарацию на поздних стадиях [13].

Пролиферативная фаза

В исходе пролиферативной фазы происходит реэпителизация и формирование грануляционной ткани.

Реэпителизация. После финального наложения конъюнктивальных швов заживление происходит первичным натяжением в области конъюнктивно-роговичного разреза. Реэпителизация раны начинается в течение первых часов после травмы, при этом через ее края начинают мигрировать эпителиальные клетки. На первом этапе эпителий конъюнктивы дифференцируется в более подвижный фенотип: происходит утрата полудесмосом, которые связывают эпидермис с базальной мембраной [14], нарушается экспрессия интегринов [15], наблюдается образование и сборка внутриклеточных гладкомышечных α -актиновых филаментов [16]. Через 1-2 дня в области краев раны запускается пролиферация эпителиальных клеток.

Образование грануляций. Формирование грануляционной ткани инициирует высвобождение факторов роста, которые синтезируют тромбоциты, поврежденные клетки и макрофаги. Новый матрикс состоит из рыхлой соединительной ткани, фибробластов, новообразованных кровеносных сосудов и макрофагов.

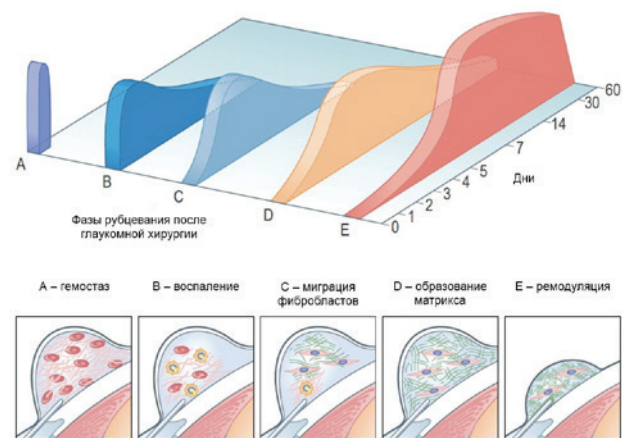


Рис. 1. Гистологические процессы в фильтрационной зоне в послеоперационном периоде (адаптированный перевод из Shaarawy T.M. с соавт., 2009).

Эти макрофаги секретируют цитокины, которые индуцируют фиброплазию и ангиогенез, в то время как фибробласты способствуют ремоделированию внеклеточного матрикса, облегчая тем самым миграцию клеток и их пролиферацию. В результате ангиогенеза образуются новые кровеносные сосуды, которые обеспечивают клеточный метаболизм кислородом и питательными веществами.

Ангиогенез начинается в течение нескольких дней с момента появления раны в ответ на низкое давление кислорода и образование молочной кислоты, характерное для травмы и хирургических манипуляций. В результате пролиферации эндотелиоцитов сосудов образуются зачатки капилляров, которые в дальнейшем разрастаются, формируя капиллярное ложе. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и основной фактор роста фибробластов представляют собой проангиогенные факторы, которые продуцируются макрофагами и тромбоцитами. Nissen N. продемонстрировал, что блокирующие антитела к этим факторам роста практически полностью подавляют процессы ангиогенеза в ране [17], что будет описано в следующем разделе статьи.

Фиброплазия — замещение внеклеточного матрикса фибробластами, мигрирующими в рану. Фиброплазию запускают факторы роста, такие как трансформирующий фактор роста β и тромбоцитарный фактор роста, которые стимулируют образование внеклеточного матрикса, пролиферацию фибробластов и дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Moulin V. продемонстрировал, что фиброплазия зависит, скорее, от присутствия фибробластов, а не миофибробластов [18]. Согласно Sappino A., в миофибробластах обнаруживаются пучки внутриклеточных филаментов, состоящих из гладкомышечного α -актина — изоформы, которую экспрессируют гладкие миоциты [19]. Миофибробласты способствуют закрытию раны благодаря смыканию ее краев и формированию внеклеточного матрикса.

Миграция фибробластов в рану обусловлена не только хемотаксисом в направлении растворимых факторов, но и механизмами контактного ориентирования и так называемого гаплотаксиса. Гаплотаксис — это процесс движения клеток по градиенту поверхностных молекул адгезии, а контактное ориентирование представляет собой миграцию фибробластов по неоднородностям матрикса, на которых они оседают. Эти механизмы отражают взаимозависимость фибробластов и внеклеточного матрикса: фибробласты синтезируют компоненты внеклеточного матрикса и осуществляют его ремоделирование, а матрикс регулирует подвижность фибробластов.

Миграция фибробластов в фибриновый сгусток и сквозь него невозможна без деградации внеклеточного матрикса. Когда фибробласты мигрируют через интерфейс фибронектина, между ним и подлежащим субстратом формируется тракция, из-за чего рана стягивается. Этот процесс облегчается благодаря высвобождению матриксных металлопротеиназ (ММР) [20]. Белки этого семейства катализируют деградацию внеклеточного матрикса, создавая тем самым «коридор» для миграции фибробластов. Работу ММР подавляют их тканевые ингибиторы (ТИМР). Соотношение ММР и ТИМР определяет баланс между разрушением тканей и синтезом внеклеточного матрикса.

Согласно Hynes R., фибробласты связываются с различными компонентами матрикса (фибрином, фибронектином и витронектином) благодаря взаимодействию с клеточно-связывающими доменами матриксных белков через интегрины [21]. Клеточно-связывающие домены в совокупности регулируют силу межклеточного взаимодействия и, соответственно, подвижность клеток [22].

Выработку коллагена стимулируют трансформирующий фактор роста β и интерлейкин-4, синтезируемый тучными клетками [21]. На экспериментальных моделях фильтрующей хирургии глаукомы Desjardins D. и Miller M. было показано, что коллаген является основным компонентом раневого матрикса [4, 23].

Фаза ремоделирования

Хотя стадия образования матрикса и ремоделирования расценивается как завершающий этап заживления раны, по времени она совпадает с формированием грануляционной ткани, но в отличие от формирования грануляций, эта стадия продолжается в течение многих месяцев после появления раны. Она характеризуется ремоделированием матрикса, дифференцировкой клеток, их созреванием и апоптозом. В процессе ремоделирования раны фибробласты начинают дифференцироваться в миофибробласты. Исследованиями Desmouliere A. показано, что после заживления раны и восстановления нормальной тканевой структуры численность фибробластов и миофибробластов

уменьшается вследствие индукции механизмов апоптоза [24, 25].

Ремоделирование — процесс, при котором происходит очищение раны благодаря одновременному синтезу и разрушению компонентов матрикса. Ключевыми медиаторами деградации внеклеточного матрикса являются активаторы плазминогена и матриксные металлопротеиназы. Ремоделирование начинается с разрушения гиалуроната и фибронектина. Созревание, как этап ремоделирования, ассоциирован с отложением протеогликанов и замещением коллагена типа III коллагеном типа I, что происходит одновременно с уменьшением численности фибробластов. Эти процессы отражают перестройку матрикса, который становится более прочным на разрыв и устойчивым к деформации.

Апоптоз. Ключевым событием превращения грануляционной ткани, содержащей многочисленные клетки, в рубец с небольшим количеством клеток, является гибель фибробластов по механизму апоптоза. Показано, что апоптоз фибробластов происходит в ранах кожи, почек и легких [25-27]. Считается, что механизмы индукции апоптоза фибробластов изучены не до конца. В качестве одного из них предполагается снижение механической упругости соединительной ткани. В ходе экспериментов в культуре клеток Grinnell F. продемонстрировал, что именно снижение механической упругости служит триггером апоптоза фибробластов. При механической нагрузке на коллагеновый матрикс апоптоз фибробластов замедляется, а когда нагрузка исчезает, почти сразу же начинается апоптоз [28]. Crowston J. показал, что митомицин С в культуре клеток инициирует апоптоз фибробластов теноновой капсулы, а, следовательно, индукция апоптоза фибробластов может служить механизмом, посредством которого этот цитотоксический агент препятствует образованию рубцовой ткани после трабекулэктомии [29, 30].

На завершающем этапе заживления раны (по данным Crowston J.) ключевое значение имеет четкая регуляция механизма гибели фибробластов: апоптоз фибробластов должен начаться не слишком рано (т.е. до тех пор, пока дефект затянулся), но и не слишком поздно, чтобы не возникло функциональных нарушений, обусловленных избыточным рубцеванием и стягиванием раны [30]. Нарушение апоптоза удлинит срок жизни фибробластов и способствует избыточному рубцеванию [24]. Анализ биоптатов келоидных рубцов кожи человека, проведенный Martin C., свидетельствует о том, что персистирующая активность фибробластов и воспалительный процесс имеют место в сроки до 10 лет после хирургического вмешательства. Это принципиально отличает их от нормальных рубцов, в которых активность фибробластов становится минимальной уже через год после операции [31]. И напротив, согласно Darby I., избыточный или преждев-

ременный апоптоз фибробластов может стать причиной неполного заживления раны. Нарушение процесса заживления глубоких ран на всю толщу кожи, которое наблюдается у мышей линии NOD (с диабетом без ожирения), ассоциировано с более активным апоптозом фибробластов, если сравнивать с заживлением аналогичных ран у мышей контрольной группы [32].

Роль молекулярных факторов в регуляции рубцевания

За последние 15 лет сделан существенный шаг вперед в понимании процессов заживления раны на молекулярном уровне. Благодаря этому появилась возможность контролировать эти процессы посредством терапевтических стратегий, «мишенью» для которых служат белки или клетки.

Чтобы понять, каким образом происходит регуляция процесса заживления раны в норме на молекулярном и клеточном уровне, вначале нужно выяснить, как меняется экспрессия генов в этом случае. Паттерны изменений экспрессии генов, которые имеют место в ходе заживления ран при глаукоме, исследуют с помощью технологии генных микрочипов [33, 34]. Микрочипы позволяют быстро оценивать изменения в экспрессии тысяч генов одновременно [35]. Благодаря этому появляется возможность идентифицировать гены, экспрессия которых после хирургии глаукомы существенно усиливается или подавляется. Изучение влияния белков, транслируемых с соответствующих мРНК, на процессы ранозаживления позволяет определить потенциальные терапевтические «мишени». Наконец, модуляция последующих звеньев каскада реакции ранозаживления уменьшает выраженность рубцевания и минимизирует побочные эффекты.

Esson D. осуществил биопсию конъюнктивы и теновой капсулы фильтрационной подушки на крысах спустя 2, 5 и 12 дней после фильтрующей операции, выделил из них РНК и гибридизировал ее на микрочипах [34]. Было установлено, что после операции уровень экспрессии ряда генов конъюнктивы и теновой капсулы претерпевает существенные изменения. Наиболее выраженные изменения происходили между нулевым (норма, отсутствие раны) и 2, а также 5 днем после вмешательства. В частности, экспрессия генов факторов роста (TGF- β и фактора роста соединительной ткани, CTGF), белков внеклеточного матрикса (коллагена I, II, III, V и XVIII типов, фибронектина, витронектина и протеогликанов), протеаз, опосредующих миграцию клеток, и ремоделирование внеклеточного матрикса (матриксные металлопротеиназы, MMP 2, 9 и 11), а также тканевых ингибиторов MMP (TIMP 1, 2 и 3) увеличилась в 5 и более раз. На 12 день послеоперационного периода, когда фильтрационная подушка практически зарубцевалась, уровень экспрессии указанных генов был снижен.

Факторы роста

Считается, что ключевую роль в рубцевании различных тканей играют три фактора роста:

- трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor- β , TGF- β);
- фактор роста соединительной ткани (connective tissue growth factor, CTGF);
- сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF).

Трансформирующий фактор роста β играет ключевую роль в рубцевании тканей различных типов [36-39]. У млекопитающих обнаружено три изоформы TGF- β (β 1, β 2 и β 3), которые оказывают одинаковое влияние на культуры фибробластов, стимулируя синтез белков внеклеточного матрикса (коллагена I и III типов, протеогликанов, эластина), перекрестно-связывающего коллаген белка, лизилоксидазы и CTGF. Кроме того, TGF- β подавляет выработку матриксных металлопротеиназ (matrix metalloproteinases, MMP) и усиливает продукцию тканевых ингибиторов металлопротеиназ (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP) фибробластами. Результаты опытов Curtsinger L. и Shah M. на животных свидетельствуют о том, что TGF- β способствует фиброзу так же, как и в культуре клеток. Так, лечение кожных ран у обычных крыс и крыс с нарушением ранозаживления с помощью TGF- β позволяет быстрее добиться рубцевания и повысить прочность рубца на разрыв [40, 41]. Кроме того, при различных патологических состояниях, сопровождающихся аномальным фиброзом (гломерулонефрит, цирроз печени, легочный фиброз, склеродермия, рестеноз сосудов, гипертрофический послеожоговый рубец), у человека наблюдается повышение уровня TGF- β [36, 37]. Вероятно TGF- β также регулирует ключевые этапы заживления роговичных разрезов. Методом иммунолокализации Yoshino K. обнаружил белок TGF- β в клетках роговицы и слезной железы [42]. После фото-рефракционной кератэктомии (ФРК) увеличение содержания TGF- β в слезе было выявлено Vesaluoma M. [43]. По данным Chen C. у крыс в процессе рубцевания после ФРК уровень мРНК всех трех изоформ, TGF- β и его рецепторов в роговице возрастает и остается повышенным в течение 90 дней [44]. Как упоминалось выше, согласно Esson D., в восстановительном периоде после хирургии глаукомы содержание TGF- β и CTGF в тканях фильтрационной подушки также увеличивается [34]. Таким образом, получено множество убедительных доказательств в пользу того, что TGF- β способствует рубцеванию.

Фактор роста соединительной ткани (CTGF) — белок, служащий еще одним ключевым регулятором процессов рубцевания [45-47]. Впервые он был выделен из кондиционированной среды эндотелиоцитов сосудов человека. Он стимулирует синтез белков внеклеточного матрикса (в том числе, коллагена типа I, фибронектина и эластина) фибробластами в культуре

клеток. Содержание CTGF возрастает при ряде заболеваний с патологическим фиброзом, но что еще более важно, TGF- β индуцирует выработку CTGF, а антитела или античувствительные олигонуклеотиды к CTGF блокируют пролиферацию фибробластов, индуцированную TGF- β , и усиливают продукцию внеклеточного матрикса [48, 49]. Таким образом, CTGF является медиатором TGF- β -индуцированной пролиферации и синтеза внеклеточного матрикса. Роль CTGF в заживлении ран в офтальмологии до конца не определена, однако методом иммунолокализации Esson D. установил, что после фильтрующей хирургии CTGF обнаруживается в роговице, конъюнктиве, склере и сосудистой оболочке, а в послеоперационном периоде у крыс наблюдается повышение уровня мРНК CTGF в тканях фильтрационной подушки [50]. Эти данные позволяют предположить, что избыточное образование внеклеточного матрикса в процессе ранозаживления опосредовано скорее CTGF, чем TGF- β . Следовательно, целевое ингибирование CTGF является определяющим моментом в подавлении рубцевания после фильтрующей хирургии глаукомы.

В ходе различных исследований продемонстрировано, что TGF- β и CTGF служат ключевыми факторами роста, задействованными в механизмах рубцевания после фильтрующей хирургии глаукомы [51-53]. Выше были приведены результаты исследования Esson D. роста содержания TGF- β^2 и CTGF в тканях фильтрационной подушки кроликов на 5-е сутки после фильтрующей операции [50]. Обращает на себя внимание тот факт, что в конъюнктиве на удалении 180° от фильтрационной подушки уровень CTGF и TGF- β^2 существенно не меняется, что означает ограничение ранозаживляющих процессов зоной оперативного вмешательства. Экстраполируя эти данные на клиническую практику, можно сделать вывод о том, что терапия, направленная на ограничение рубцевания, должна носить локальный характер.

Esson D. также оценил влияние введения экзогенных CTGF и TGF- β^2 на процессы рубцевания при формировании фильтрационных подушек с использованием митомицина C (MMC) [50]. Было установлено, что экзогенные CTGF и TGF- β^2 существенно увеличивают частоту неудачных исходов хирургии фильтрующего типа с использованием MMC. Ранее Cordeiro M. также продемонстрировал, что после фильтрующей операции в конъюнктиве повышается содержание всех трех изоформ TGF- β , а введение TGF- β в конъюнктиву в послеоперационном периоде ускоряет рубцевание фильтрационной подушки и потерю эффекта от вмешательства [51]. Результаты обоих исследований подтверждают гипотезу о том, что CTGF и TGF- β играют ключевую роль в рубцевании конъюнктивы и теноновой капсулы после фильтрующей хирургии глаукомы.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). В последние годы наблюдается повышение интереса к VEGF, что связано с его доказанной ролью в патогенезе экссудативной возрастной макулодистрофии. Wong J. (1994) изучил влияние трех ингибиторов ангиогенеза на пролиферацию и миграцию фибробластов и выяснил, что они существенно подавляют оба эти процесса. Это заставило обратить внимание на эффекты VEGF при глаукоме и антиглаукомных хирургических вмешательствах [54]. В ходе клинического исследования после фистулизирующей хирургии Hu D. показал, что при глаукоме повышается уровень VEGF по сравнению с клинически здоровыми глазами, причем даже в предоперационном периоде [55]. Кроме того, для глаукомных глаз с повышенным содержанием VEGF в предоперационном периоде характерен более высокий риск неудачного исхода хирургического вмешательства, чем для глаукомных глаз с не столь его высоким содержанием [56]. Li Z. в эксперименте на кроликах продемонстрировал, что уже в первые сутки после трабекулэктомии уровень VEGF повышается и остается увеличенным до 30 дней после вмешательства по сравнению с предоперационным периодом [57].

Известно, что различные изоформы VEGF имеют разные функции: VEGF121 и VEGF165 задействованы в процессах ангиогенеза, а VEGF121 и VEGF189 ускоряют рост фибробластов. Следовательно, целевое уменьшение содержания VEGF перед хирургическим вмешательством при глаукоме потенциально позволяет улучшить исходы операции.

Матриксные металлопротеиназы

ММП представляют собой семейство белков, которые способны расщеплять компоненты внеклеточного матрикса. К этому семейству относятся коллагеназы, желатиназы, стромелизины и ММП мембранного типа. Предположительно, ММП играют ключевую роль в контрактуре фильтрационной подушки за счет своего влияния на фибробласты теноновой капсулы. Так, Daniels J. оценил уровень синтеза ММП при сжатии плавающих мембран из коллагена типа I, заселенных фибробластами [58]. Было установлено, что в этом случае фибробласты теноновой капсулы экспрессируют мРНК и белки ММП-1, ММП-2 и ММП-3. Добавление ингибиторов ММП (иломастат, BB-94 и BMS-275291) препятствовало сжатию этих мембран, что позволило сделать вывод о том, что опосредованное фибробластами сокращение мембран из геля коллагена невозможно без активно функционирующих ММП. Следовательно, селективное ингибирование ММП после фильтрующей операции оказывает превентивное действие на стягивание фильтрационной подушки в послеоперационном периоде, позволяя уменьшить вероятность неудачного исхода.

Иломастат, модифицированный белок (дипептид) — мощный синтетический ингибитор ММР (коллагеназы, желатиназы и стромелизина фибробластов) [59]. Wong T. оценил влияние субконъюнктивального введения иломастата после антиглаукомной операции на функционирование фильтрационной подушки и контролируемость ВГД у кроликов. Он обнаружил, что в группе иломастата имело место статистически достоверное улучшение обоих параметров по сравнению с контрольной группой [60]. Кроме того, при гистологическом исследовании выяснилось, что в основной группе уменьшилась выраженность визуальных признаков рубцевания. Затем исследователи повторили этот эксперимент, добавив еще одну группу с интраоперационной аппликацией ММС, увеличив срок наблюдения. Оказалось, что гипотензивный эффект снижался спустя 46 дней в группе с иломастатом, через 51 день — в группе с ММС и через 16 дней — в контрольной группе. Характерно, что ВГД в группах с иломастатом и ММС было сопоставимо. Выраженность фиброза в этих группах была минимальной, однако в группе ММС наблюдалось уменьшение численности клеток конъюнктивы на фоне фиброза по периферии, в то время как в группе с иломастатом морфо-

логия конъюнктивы была ближе к норме [60]. Данные, полученные в ходе вышеуказанных исследований, подтверждают роль ММР в процессах рубцевания после фильтрующей антиглаукомной операции и позволяют предположить, что ингибиторы ММР могут оказывать подавляющее действие на процессы ранозаживления, не провоцируя при этом отсроченных осложнений, характерных для антиметаболитов [61].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая позднюю выявляемость глаукомы в мире и низкую комплаентность больных при соблюдении гипотензивного режима, ряд исследователей относят глаукому к хирургической патологии. Однако формирование новых путей оттока методом хирургической травмы сопровождается процессами активной репарации поврежденной зоны со снижением отдаленного гипотензивного эффекта вмешательств. Знание современных аспектов патоморфологических процессов, происходящих в области фильтрационной зоны, призвано стимулировать разработку новых методов пролонгации действия фильтрующей хирургии.

Мнение авторов может не совпадать с позицией редакции

REFERENCES

- European Glaucoma S. Terminology and guidelines for glaucoma. 4th edition ed: Savona, Italy PubliComm 2014.; 2014.
- Shaarawy T.M., Sherwood M.B., Hitchings R.A., Crowston J.G. Glaucoma, Vol. 2: Surgical Management. Second edition ed: Elsevier; 2015.
- Costa V.P., Spaeth G.L., Eiferman R.A., Orengo-Nania S. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic surgery* 1993; 24 (3): 152-170.
- Desjardins D.C., Parrish R.K., Folberg R., Nevarez J., et al. Wound healing after filtering surgery in owl monkeys. *Archives of ophthalmology* 1986; 104 (12): 1835-1839.
- Shaarawy T.M., Sherwood M.B., Hitchings R.A., Crowston J.G. Glaucoma, Vol. 2: Surgical Management. First edition ed: Elsevier; 2009.
- Clark R.A. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair. *Archives of dermatology* 1988; 124 (2): 201-206.
- Postlethwaite A.E., Kang A.H. Collagen and collagen peptide-induced chemotaxis of human blood monocytes. *The Journal of experimental medicine* 1976; 143 (6): 1299-1307.
- Barbul A., Regan M.C. Immune involvement in wound healing. *Otolaryngologic clinics of North America* 1995; 28 (5): 955-968.
- Leibovich S.J., Ross R. A macrophage-dependent factor that stimulates the proliferation of fibroblasts in vitro. *The American journal of pathology* 1976; 84 (3): 501-514.
- Leibovich S.J., Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *The American journal of pathology* 1975; 78 (1): 71-100.
- Sheridan C.M., Unger W.G., Ayliffe W., Alam Y., et al. Macrophages during fibrosis following scleral fistulizing surgery in a rat model. *Current eye research* 1996; 15 (5): 559-568.
- Chang L., Crowston J.G., Cordeiro M.F., Akbar A.N., et al. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Survey of ophthalmology* 2000; 45 (1): 49-68.
- Barbul A., Shawe T., Rotter S.M., Efron J.E., et al. Wound healing in nude mice: a study on the regulatory role of lymphocytes in fibroplasia. *Surgery* 1989; 105 (6): 764-769.
- Krawczyk W.S., Wilgram G.F. Hemidesmosome and desmosome morphogenesis during epidermal wound healing. *Journal of ultrastructure research* 1973; 45 (1): 93-101.
- Nguyen B.P., Gil S.G., Carter W.G. Deposition of laminin 5 by keratinocytes regulates integrin adhesion and signaling. *The Journal of biological chemistry* 2000; 275 (41): 31896-31907.
- Gabbiani G., Chapponnier C., Huttner I. Cytoplasmic filaments and gap junctions in epithelial cells and myofibroblasts during wound healing. *The Journal of cell biology* 1978; 76 (3): 561-568.
- Nissen N.N., Poverini P.J., Koch A.E., Volin M.V., et al. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *The American journal of pathology* 1998; 152 (6): 1445-1452.
- Moulin V., Castilloux G., Auger F.A., Garrel D., et al. Modulated response to cytokines of human wound healing myofibroblasts compared to dermal fibroblasts. *Experimental cell research* 1998; 238 (1): 283-293.
- Sappino A.P., Schurch W., Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1990; 63 (2): 144-161.
- Deryugina E.I., Bourdon M.A., Reisfeld R.A., Strongin A. Remodeling of collagen matrix by human tumor cells requires activation and cell surface association of matrix metalloproteinase-2. *Cancer research* 1998; 58 (16): 3743-3750.
- Hynes R.O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69 (1): 11-25.
- Gailit J., Pierschbacher M., Clark R.A. Expression of functional alpha 4 beta 1 integrin by human dermal fibroblasts. *The Journal of investigative dermatology* 1993; 100 (3): 323-328.
- Miller M.H., Grierson I., Unger W.I., Hitchings R.A. Wound healing in an animal model of glaucoma fistulizing surgery in the rabbit. *Ophthalmic surgery* 1989; 20 (5): 350-357.
- Desmouliere A., Badid C., Bochaton-Piallat M.L., Gabbiani G. Apoptosis during wound healing, fibrocontractile diseases and vascular wall injury. *The international journal of biochemistry & cell biology* 1997; 29 (1): 19-30.
- Desmouliere A., Redard M., Darby I., Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *The American journal of pathology* 1995; 146 (1): 56-66.
- Baker A.J., Mooney A., Hughes J., Lombardi D., et al. Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. *The Journal of clinical investigation* 1994; 94

- (5): 2105-2116.
27. Polunovsky V.A., Chen B., Henke C., Snover D., et al. Role of mesenchymal cell death in lung remodeling after injury. *The Journal of clinical investigation* 1993; 92 (1): 388-397.
 28. Grinnell F., Zhu M., Carlson M.A., Abrams J.M. Release of mechanical tension triggers apoptosis of human fibroblasts in a model of regressing granulation tissue. *Experimental cell research* 1999; 248 (2): 608-619.
 29. Crowston J.G., Akbar A.N., Constable P.H., Occeleston N.L., et al. Antimetabolite-induced apoptosis in Tenon's capsule fibroblasts. *Investigative ophthalmology & visual science* 1998; 39 (2): 449-454.
 30. Crowston J.G., Chang L.H., Constable P.H., Daniels J.T., et al. Apoptosis gene expression and death receptor signaling in mitomycin-C-treated human tenon capsule fibroblasts. *Investigative ophthalmology & visual science* 2002; 43 (3): 692-699.
 31. Martin C.W., Muir I.F. The role of lymphocytes in wound healing. *British journal of plastic surgery* 1990; 43 (6): 655-662.
 32. Darby I.A., Bisucci T., Hewitson T.D., MacLellan D.G. Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. *The international journal of biochemistry & cell biology* 1997; 29 (1): 191-200.
 33. DeRisi J. L., Iyer V.R., Brown P.O. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science* 1997; 278 (5338): 680-686.
 34. Esson D.W., Popp M.P., Liu L., Schultz G.S., Sherwood M.B. Microarray analysis of the failure of filtering blebs in a rat model of glaucoma filtering surgery. *Investigative ophthalmology & visual science* 2004; 45 (12): 4450-4462.
 35. Popp M.P., Liu L., Timmers A., Esson D.W., et al. Development of a microarray chip for gene expression in rabbit ocular research. *Molecular vision* 2007; 13: 164-173.
 36. Blobel G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F. Role of transforming growth factor beta in human disease. *The New England journal of medicine* 2000; 342 (18): 1350-1358.
 37. Border W.A., Noble N.A. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *The New England journal of medicine* 1994; 331 (19): 1286-1292.
 38. O'Kane S., Ferguson M.W. Transforming growth factor beta s and wound healing. *The international journal of biochemistry & cell biology* 1997; 29 (1): 63-78.
 39. Roberts A.B. Transforming growth factor-beta: activity and efficacy in animal models of wound healing. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 1995; 3 (4): 408-418.
 40. Curtissinger L.J., Pietsch J.D., Brown G.L., von Fraunhofer A., et al. Reversal of Adriamycin-impaired wound healing by transforming growth factor-beta. *Surgery, gynecology & obstetrics* 1989; 168 (6): 517-522.
 41. Shah M., Foreman D.M., Ferguson M.W. Neutralising antibody to TGF-beta 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *Journal of cell science* 1994; 107 (Pt 5): 1137-1157.
 42. Yoshino K., Garg R., Monroy D., Ji Z., Pflugfelder S.C. Production and secretion of transforming growth factor beta (TGF-beta) by the human lacrimal gland. *Current eye research* 1996; 15 (6): 615-624.
 43. Vesaluoma M., Teppo A.M., Gronhagen-Riska C., Tervo T. Release of TGF-beta 1 and VEGF in tears following photorefractive keratectomy. *Current eye research* 1997; 16 (1): 19-25.
 44. Chen C., Michelini-Norris B., Stevens S., Rowsey J., et al. Measurement of mRNAs for TGFss and extracellular matrix proteins in corneas of rats after PRK. *Investigative ophthalmology & visual science* 2000; 41 (13): 4108-4116.
 45. Brigstock D.R. The connective tissue growth factor/cysteine-rich 61/nephroblastoma overexpressed (CCN) family. *Endocrine reviews* 1999; 20 (2): 189-206.
 46. Grotendorst G.R. Connective tissue growth factor: a mediator of TGF-beta action on fibroblasts. *Cytokine & growth factor reviews* 1997; 8 (3): 171-179.
 47. Moussad E.E., Brigstock D.R. Connective tissue growth factor: what's in a name? *Molecular genetics and metabolism* 2000; 71 (1-2): 276-292.
 48. Duncan M.R., Frazier K.S., Abramson S., Williams S., et al. Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor beta-induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 1999; 13 (13): 1774-1786.
 49. Igarashi A., Okochi H., Bradham D.M., Grotendorst G.R. Regulation of connective tissue growth factor gene expression in human skin fibroblasts and during wound repair. *Molecular biology of the cell* 1993; 4 (6): 637-645.
 50. Esson D.W., Neelakantan A., Iyer S.A., Blalock T.D., et al. Expression of connective tissue growth factor after glaucoma filtration surgery in a rabbit model. *Investigative ophthalmology & visual science* 2004; 45 (2): 485-491.
 51. Cordeiro M.F., Bhattacharya S.S., Schultz G.S., Khaw P.T. TGF-beta1, -beta2, and -beta3 in vitro: biphasic effects on Tenon's fibroblast contraction, proliferation, and migration. *Investigative ophthalmology & visual science* 2000; 41 (3): 756-763.
 52. Cordeiro M.F., Reichel M.B., Gay J.A., D'Esposito F., et al. Transforming growth factor-beta1, -beta2, and -beta3 in vivo: effects on normal and mitomycin C-modulated conjunctival scarring. *Investigative ophthalmology & visual science* 1999; 40 (9): 1975-1982.
 53. Khaw P.T., Occeleston N.L., Schultz G., Grierson I., et al. Activation and suppression of fibroblast function. *Eye* 1994; 8 (Pt 2): 188-195.
 54. Wong J., Wang N., Miller J.W., Schuman J.S. Modulation of human fibroblast activity by selected angiogenesis inhibitors. *Experimental eye research* 1994; 58 (4): 439-451.
 55. Hu D.N., Ritch R., Liebmann J., Liu Y., et al. Vascular endothelial growth factor is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Journal of glaucoma* 2002; 11 (5): 406-410.
 56. Lopilly H.Y., Kim J.H., Ahn M.D., Park C.K. Level of vascular endothelial growth factor in tenon tissue and results of glaucoma surgery. *Archives of ophthalmology* 2012; 130 (6): 685-689.
 57. Li Z., Van Bergen T., Van de Veire S., Van de Vel I., et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces scar formation after glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science* 2009; 50 (11): 5217-5225.
 58. Daniels J.T., Cambrey A.D., Occeleston N.L., Garrett Q., et al. Matrix metalloproteinase inhibition modulates fibroblast-mediated matrix contraction and collagen production in vitro. *Investigative ophthalmology & visual science* 2003; 44 (3): 1104-1110.
 59. Wong T.T., Mead A.L., Khaw P.T. Matrix metalloproteinase inhibition modulates postoperative scarring after experimental glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science* 2003; 44 (3): 1097-1103.
 60. Wong T.T., Mead A.L., Khaw P.T. Prolonged antiscarring effects of ilomastat and MMC after experimental glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science* 2005; 46 (6): 2018-2022.
 61. Parrish R., Minckler D. «Late endophthalmitis» – filtering surgery time bomb? *Ophthalmology* 1996; 103 (8): 1167-1168.