

## Вопросы клинической офтальмологии

УДК 617.711-004.1:616.523:616-006.52:575.24/.25

### Залежність виникнення рецидивів хірургічного лікування птеригіуму від наявності герпесвірусів, вірусу папіломи людини та мутації V600E гена BRAF

С. О. Риков <sup>1</sup>, д-р мед. наук, професор; К. О. Усенко <sup>1</sup>, лікар;

С. Ю. Могілевський <sup>1</sup>, д-р мед. наук, професор; С. В. Зябліцев <sup>2</sup>, д-р мед. наук, професор;

Л. І. Денисюк <sup>1</sup>, канд. мед. наук

<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика; Київ (Україна)

<sup>2</sup> Національний медичний університет імені О. О. Богомольця; Київ (Україна)

E-mail: sergey.mogilevskyy@gmail.com

**Вступ.** В наших попередніх публікаціях ми повідомляли про зв'язок виникнення птеригіуму з наявністю герпесвірусів та вірусу папіломи людини (ВПЛ), а також точковою соматичною мутацією V600E гена BRAF. У даному дослідженні зроблена спроба виявлення наявності рецидивування птеригіуму протягом року після операції в залежності від наявності таких факторів.

**Мета дослідження** – виявити залежність виникнення рецидивів після хірургічного лікування птеригіуму від наявності герпесвірусів (вірусу простого герпесу, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна-Барр та ВПЛ 6, 11, 16 і 18 типів та мутації V600E гена BRAF).

**Матеріал та методи.** Всього обстежено 203 пацієнта (232 ока), розподілених на п'ять груп (1 група – 49 очей, на яких було виконано операцію Мак-Рейнольдса; 2 група – 41 око – з використанням методу Мак-Рейнольдса з подальшою аплікацією в область рогівки 0,02% розчину мітоміцину С; 3 група – 49 очей, на яких використаний метод Арльта; 4 група – 46 очей з використанням сполучення методу Арльта з аплікацією мітоміцину С; 5 група – 47 очей, на яких було виконано видалення птеригіуму за допомогою нового розробленого методу із захопленням ростової зони птеригіуму, кон'юнктивальною аутопластиком та застосуванням 0,02% розчину мітоміцину С.

Верифікацію вірусів проведено методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі з використанням реактивів ТОВ «ДНК-технологія» (РФ). Ампліфікацію проводили в автоматичному ампліфікаторі «ДТ-lite» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Визначення мутації V600E гена BRAF здійснено на тест-системах TaqMan Mutation Detection Assays Thermo Fisher Scientific (США), ампліфікатор Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems, США).

**Результати.** Розроблена методика дозволила знизити кількість рецидивів протягом першого року після операції з 31,9% (при застосуванні традиційних методик Мак-Рейнольдса та Арльта без та з аплікацією мітоміцину С) до 14,9%, тобто на 17,0% або у 2,1 рази ( $\chi^2=5,32$ ;  $p=0,021$ ). Загальною тенденцією була чітка залежність розвитку рецидиву від наявності мутації V600E гена BRAF: у групах з традиційними методами хірургічного лікування за наявності мутації кількість рецидивів склала від 73,3 до 81,2%, а без мутації – від 4,2% до 10,7% ( $p<0,001$ ). Наявність мутації V600E гена BRAF підвищувала ризик розвитку рецидиву протягом року після операції у 35 разів (ВШ=35,7; 95% ВІ 15,7-81,2). Використання розробленого методу також дозволило знизити кількість рецидивів за наявності мутації V600E гена BRAF у порівнянні з традиційними методами з 77,3 до 37,5%, тобто на 39,8% або у 2,1 рази ( $\chi^2=116,02$ ;  $p<0,001$ ). Була показана відсутність залежності розподілу рецидивів птеригіуму по групах від наявності вірусів ВПГ, ВЕБ, ЦМВ та ВПЛ, як по окремим вірусам, так і по їх сполученням (у всіх випадках  $p>0,1$ ).

**Висновок.** Таким чином, наявність герпесвірусів вірусу папіломи людини та мутації V600E гена BRAF є фактором ризику розвитку птеригіуму після хірургічного лікування.

**Ключові слова:**

птеригіум, вірус простого герпесу, цитомегаловірус, вірус Епштейна-Барр, вірус папіломи людини, мутації V600E гена BRAF.

**Вступ.** За даними літератури, птеригіум, як правило, рецидивує в перші 4-6 місяців після операції, а 97% рецидивів трапляються протягом першого року [1, 2, 3]. В згаданих мета-аналізах підсумовуються останні відомості про ефективність застосування кон'юнктивального аутоотрансплантату, мітоміцину С, циклоспорину А, аутокрові, анти-VEGF- і бета-терапії та їх сполучень. Найбільш ефективним визнано використання кон'юнктивального аутоотрансплантату у сполученні з 0,05% розчином циклоспорину. За іншими даними найбільш ефективним способом ад'ювантної терапії є інтраопераційне застосування мітоміцину С. Але ж, всупереч таким результатам, загальний рівень рецидивів лишається досить високим (11-38%) [1, 2]. Ми також раніше повідомляли про частоту рецидивів після застосування різних методів хірургічного лікування птеригіумів в найближчі та віддалені строки спостереження [4].

На етіологічну роль вірусу папіломи людини (ВПЛ), які виконують роль триггеру у запуску механізмів надмірної клітинної проліферації, вказували ряд досліджень [5, 6]. Окрім ВПЛ, асоціацію птеригіуму визначали також і з іншими онкогенними вірусами, в тому числі з вірусом простого герпесу (ВПГ), вірусом Епштейна-Барра (ВЕБ), цитомегаловірусом (ЦМВ) [7, 8, 9, 10]. Одним з основних факторів активації проліферації епітелію є ген BRAF, який кодує молекулу, що бере участь в передачі сигналу з мембранних тирозинкіназних рецепторів до ядра [11]. Сімейство RAF-кіназ представлено декількома генами (ARAF, BRAF і CRAF), в нормі домінуюча роль належить CRAF, при порушеннях – BRAF [12]. Мутантний BRAF безконечно передає стимули до кіназ MEK і ERK, які грають ключову роль у запуску процесів клітинного ділення. Домінуючою мутацією є T1799>A, яка призводить до заміни валіну на глютамінову кислоту (V600E) [11, 12]. На цей час відомо, що ця мутація зустрічається у 87% випадків папілярного раку щитоподібної залози, 50% випадків меланому, колоректальному раку [13, 14, 15]. Отже, у даному дослідженні була здійснена спроба проаналізувати залежність частоти рецидивів птеригіуму протягом одного року після застосування різних способів його хірургічного лікування від наявності герпес- та папілома вірусів і мутації V600E гена BRAF.

**Мета дослідження** – виявити залежність виникнення рецидивів після хірургічного лікування птеригіуму від наявності герпесвірусів (ВПГ, ВЕБ, ЦМВ), ВПЛ 6, 11, 16 і 18 типів та мутації V600E гена BRAF.

#### Матеріал і методи

Клінічні дослідження були проведені у Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока», яка є клінічною базою кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

Всього обстежено 203 пацієнта (232 ока) з птеригіумом. Чоловіків було 108, жінок – 95. Вік пацієнтів

склав від 35 до 65 років. Середня давність захворювання склала 2,5-2,7 років.

Всіх хворих розділили на п'ять груп: 1 група включала 49 очей (21,1%), на яких було виконано видалення птеригіуму за методом Мак-Рейнольдса; 2 групу становило 41 око (17,7%) з використанням методу Мак-Рейнольдса і подальшою аплікацією в область рогики 0,02% розчину мітоміцину С (час інстиляції 30 секунд); 3 групу становили 49 очей (21,1%), на яких було виконано видалення птеригіуму за методом Арльта; 4 група – 46 очей (19,8%) з використанням методу Арльта і подальшою аплікацією 0,02% розчину мітоміцину С; 5 групу становили 47 очей (20,3%), на яких видалення птеригіуму проведено за допомогою розробленого нами методу із захопленням ростової зони птеригіуму, кон'юнктивальною аутопластикою та застосуванням 0,02% розчину мітоміцину С [17]. Всі групи були статистично подібні за статтю, віком та стадією птеригіуму. Оперативне лікування проведено під місцевою анестезією, однією бригадою хірургів.

Фрагменти тканини птеригіуму, що були видалені під час операції, збирали у контейнери з фізіологічним розчином, маркували та до процедури виділення ДНК заморожували при температурі -70°C. Вірусну ДНК виділяли за допомогою набору реактивів «Проба-ГС» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі визначали наявність ВПГ, ЦМВ, ВЕБ, ВПЛ (6, 11, 16 і 18 типи). Виявлення в матеріалі ДНК вірусів проводили з використанням наборів реактивів виробництва ТОВ «ДНК-технологія» (РФ). Ампліфікацію пробірок з реакційною сумішшю здійснювали в ампліфікаторі «DT-lite» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Геномну ДНК виділяли з використанням реактивів PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). Методом ПЛР в реальному часі визначали наявність соматичної мутації гена BRAF V600E rs113488022. Молекулярно-генетичний аналіз здійснювали з використанням уніфікованих тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Thermo Fisher Scientific (США) в автоматичному ампліфікаторі Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems, США).

Для статистичного аналізу результатів дослідження використовували пакет MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba).

#### Результати та їх обговорення

Співвідношення між розподілом хворих по групах та кількістю рецидивів птеригіуму протягом року спостереження і позитивними результатами виявлення мутації V600E гена BRAF наведено у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, загалом у всіх хворих, показник рецидивування протягом першого року після операції склав 28,4%, тоді як кількість BRAF-позитивних результатів (BRAF+) склала 35,3%. Порівняння перших чотирьох груп між собою (методики Мак-Рейнольдса та Арльта у модифікаціях з мітаміцином

**Таблиця 1.** Розподіл хворих на птеригіум по групах, кількості рецидивів і позитивних результатів виявлення мутації V600E гена BRAF

Група	Кількість рецидивів n (%)	Кількість BRAF+ n (%)
Хворі всіх груп, n=232 ока	66 (28,4%)	82 (35,3%)
по групах:		
1 група, n=49	13 (26,5%)	15 (30,6%)
2 група, n=41	14 (34,2%)	17 (41,5%)
3 група, n=49	15 (30,6%)	16 (32,6%)
4 група, n=46	17 (37,0%)	18 (39,1%)
РАЗОМ, n=185	59 (31,9%)	66 (35,7%)
$\chi^2_{(1-4 \text{ гр.})}$	1,32	1,58
$p_{(1-4 \text{ гр.})}$	0,723	0,664
5 група, n=47	7 (14,9%)	16 (34,0%)
$\chi^2_{((1-4) \text{ vs } 5)}$	5,32	0,04
$p_{((1-4) \text{ vs } 5)}$	0,021	0,834

Примітка:  $\chi^2(1-4 \text{ гр.})$  та  $p(1-4 \text{ гр.})$  – порівняння перших чотирьох груп між собою;  $\chi^2((1-4) \text{ vs } 5)$  та  $p((1-4) \text{ vs } 5)$  – порівняння підсумованих даних 1-4-ї груп з даними 5-ї групи

С та без нього) не виявило значущих відмінностей за частотою рецидивів ( $\chi^2=1,32$ ;  $p=0,723$ ) та наявності мутації V600E гена BRAF ( $\chi^2=1,58$ ;  $p=0,664$ ). Але результати п'ятої групи (розроблена нова методика) суттєво відрізнялися. Не дивлячись на те, що показник наявності мутації був таким, як і в інших групах ( $\chi^2=0,04$ ;  $p=0,834$ ), кількість рецидивів була суттєво меншою – 14,9 проти 31,9%, тобто на 17,0%, або у 2,1 рази ( $\chi^2=5,32$ ;  $p=0,021$ ).

У наших попередніх роботах було показано наявність зв'язку мутації V600E гена BRAF з частотою виникнення птеригіуму. Тому надалі були проаналізовані показники кількості рецидивів та мутацій окремо по групах (табл. 2).

Загальною тенденцією була чітка залежність розвитку рецидиву від наявності мутації V600E гена BRAF. Так, у 1-й групі негативний результат (BRAF-) був виявлений у 34 (69,4%) пацієнтів, у 2 з яких (5,9%) зареєстрований рецидив. Позитивний результат (BRAF+) був виявлений у 15 (30,6%) пацієнтів, серед яких у 11 (73,3%) пацієнтів розвинувся рецидив. Така різниця була статистично високо вірогідною та характерною для всіх груп (у всіх випадках  $p<0,01$ ). Так, у 2 групі кількість рецидивів при наявності мутації (BRAF+) склала 76,5 проти 4,2% при відсутності мутації (BRAF-); у 3 групі – 81,2 проти 6,1%; у 4 групі – 77,8 проти 10,7%.

Така ж сама тенденція була виявлена і у 5 групі, але кількісні показники дещо відрізнялися. Негативний результат (BRAF-) був виявлений у 31 (66,0%) пацієнта, з яких у одного (3,2%) був отриманий рецидив. Позитивний результат (BRAF+) був виявлений у 16 (34,0%) пацієнтів, серед яких тільки у 6 (37,5%) пацієнтів розвинувся рецидив.

Отже, використання розробленого нами хірургічного методу знизило кількість рецидивів птеригіуму протягом року після операції у порівнянні з підсумованими даними за існуючими методами (табл. 3) при наявності мутації V600E гена BRAF з 77,3 до 37,5% ( $\chi^2=116,02$ ;  $p<0,001$ ), тобто на 39,8% або – у 2,1 рази (табл. 3).

Отримання таких результатів дало підставу для розрахунку впливу мутації V600E гена BRAF на розвиток рецидивів птеригіуму протягом одного року після операції і визначення ступеня асоціації мутації з захворюванням (табл. 4).

Отже, мутація V600E гена BRAF мала вірогідний асоціативний зв'язок з розвитком рецидивів після опе-

Група	BRAF -/+	BRAF, n (%)	Рецидив – n (%)	Рецидив + n (%)	$\chi^2$	p
1 група, n=49	-	34 (69,4%)	32 (94,1%)	2 (5,9%)	24,29	1,0e-06
	+	15 (30,6%)	4 (26,7%)	11 (73,3%)		
2 група, n=41	-	24 (58,5%)	23 (95,8%)	1 (4,2%)	23,13	2,0e-06
	+	17 (41,5%)	4 (23,5%)	13 (76,5%)		
3 група, n=49	-	33 (67,4%)	31 (93,9%)	2 (6,1%)	28,68	<0,001
	+	16 (32,6%)	3 (18,8%)	13 (81,2%)		
4 група, n=46	-	28 (60,9%)	25 (89,3%)	3 (10,7%)	21,15	4,0e-06
	+	18 (39,1%)	4 (22,2%)	14 (77,8%)		
5 група, n=47	-	31 (66,0%)	30 (96,8%)	1 (3,2%)	9,78	0,002
	+	16 (34,0%)	10 (62,5%)	6 (37,5%)		

**Таблиця 2.** Залежність розподілу рецидивів птеригіуму по групах від наявності або відсутності мутації V600E гена BRAF

Примітка: Для всієї таблиці  $\chi^2=119,61$ ;  $df=13$ ;  $p<0,001$

**Таблиця 3.** Порівняння розподілу підсумованих даних щодо рецидивів птеригіуму в 1-й, 2-й, 3-й і 4-й групах з даними 5-ї групи в залежності від наявності або відсутності мутації V600E гена BRAF

Група	BRAF -/+	BRAF, n (%)	Рецидив – n (%)	Рецидив + n (%)	$\chi^2$	p
<b>1+2+3+4, n=185</b>	-	119 (64,3%)	111 (93,3%)	8 (6,7%)	116,02	<0,001
	+	66 (35,7%)	15 (22,7%)	51 (77,3%)		
<b>5 група, n=47</b>	-	31 (66,0%)	30 (96,8%)	1 (3,2%)		
	+	16 (34,0%)	10 (62,5%)	6 (37,5%)		

**Таблиця 4.** Вплив наявності або відсутності мутації V600E гена BRAF на розвиток рецидивів птеригіуму і ступінь її асоціації з захворюванням

BRAF n=232	Рецидив+ n (f)	Рецидив- n (f)	$\chi^2$	p	ВШ	95% ВІ
+	57 (0,246)	25 (0,108)	105,06	<0,001	35,72	15,71-81,24
-	9 (0,039)	141 (0,608)			0,03	0,01-0,06

Примітки: f – частота випадків;  $\chi^2$  – критерій ксі-квадрат за Pearson; p – значущість відмінностей; ВШ – відношення шансів; 95% ВІ – 95% вірогідний інтервал для величини ВШ

ративного лікування птеригіуму ( $\chi^2=105,06$ ;  $p<0,001$ ). Наявність такої мутації у 35,7 рази збільшувала ризик розвитку рецидиву протягом одного року (ВШ=35,72; 95% ВІ 15,71-81,24).

На другому етапі дослідження був проаналізований вплив наявності герпесвірусів (ВПГ+ЦМВ+ВЕБ) та ВПЛ (6, 11, 16 та 18 типи) на розвиток рецидивів птеригіуму протягом одного року після операції. Статистичний аналіз показав відсутність залежності розподілу рецидивів птеригіуму по групах від наявності як окремих вірусів, так і їх сполучень (у всіх випадках  $p>0,1$ ).

Оскільки, за літературними даними, може існувати синергічний зв'язок впливу ВПЛ та генетичних про-

онкогенних мутацій була здійснена спроба порівняння розподілу кількості рецидивів птеригіуму за наявністю вірусів [5, 6]. Для цього результати виявлення ВПЛ (-/+) і мутації гена BRAF (-/+) розподілили на чотири можливих варіанти (табл. 5).

Аналіз таблиці 5 показує, що максимальна кількість рецидивів була наявна при варіантах з BRAF+: (ВПЛ+BRAF+) – 70,4% і (ВПЛ-BRAF+) – 69,1%. При відсутності мутації та наявності тільки ВПЛ кількість рецидивів була невеликою: відповідно, для сполучення (ВПЛ+BRAF-) – 7,7% і (ВПЛ-BRAF-) – 2,2%. Такі результати свідчать про відсутність впливу інфікування тканини птеригіуму ВПЛ на кількість рецидивів протягом одного року після операції.

**Таблиця 5.** Залежність розподілу рецидивів птеригіуму в залежності від сполучень наявності або відсутності ВПЛ і мутації V600E гена BRAF

Сполучення, n=232	-/+	n (%)	Рецидив – n (%)	Рецидив + n (%)	$\chi^2$	p
ВПЛ+BRAF+	-	205 (88,4%)	158 (77,1%)	47 (22,9%)	26,38	0,0e-01
	+	27 (11,6%)	8 (29,6%)	19 (70,4%)		
ВПЛ+BRAF-	-	180 (77,6%)	118 (65,6%)	62 (34,4%)	14,18	1,7e-04
	+	52 (22,4%)	48 (92,3%)	4 (7,7%)		
ВПЛ-BRAF <sup>+</sup>	-	177 (76,3%)	149 (84,2%)	28 (15,8%)	58,50	0,0e-01
	+	55 (23,7%)	17 (30,9%)	38 (69,1%)		
ВПЛ-BRAF-	-	134 (57,8%)	73 (31,5%)	61 (26,3%)	45,43	0,0e-01
	+	98 (42,2%)	93 (40,1%)	5 (2,2%)		

За даними літератури, дослідження імовірного зв'язку між розвитком птеригіуму та папіломавірусною інфекцією показало, що ВПЛ не є обов'язковим етіологічним чинником, але є одним із вірогідних факторів, які збільшують ризик його розвитку [6]. У наших дослідженнях вірусна інфекція у тканині птеригіуму виявлена у 50,9% випадків, у тому числі, герпесвіруси – в 33,6% та ВПЛ – в 34,0% випадків. Причому серед ВПЛ типи 6 і 11 переважно виявлялися при перших стадіях і не виявлялися при IV стадії, тоді як типи 16 і 18, навпаки, не виявлялися при I стадії і сягали максимуму при IV стадії ( $p=7,95E-4$ ). Це вказує на можливу наявність зв'язку між ВПЛ та виникненням птеригіуму.

У 2000 році Detorakis E. Т. зі співав. запропонували теорію подвійного удару в етіології птеригіуму: перший удар – мутагенна дія ультрафіолетового випромінювання, другий удар завдає вірусна інфекція вже постраждалим від зовнішнього фактору клітинам [16]. Наші дослідження показали, що такий удар може бути потрібним: до етіологічної дії екзогенних факторів (ультрафіолет та віруси) необхідно додати ендогенний набутий фактор – соматичну проонкогенну мутацію V600E гена BRAF. Причому, цей фактор має вирішальну роль для розвитку рецидивів захворювання. Як свідчили результати даного дослідження, наявність мутації V600E гена BRAF підвищувала ризик розвитку рецидиву птеригіуму протягом року після операції у вісім разів.

#### Висновки

1. Розроблена методика хірургічного лікування дозволила знизити кількість рецидивів птеригіуму протягом першого року після операції з 31,9% (при застосуванні традиційних методик Мак-Рейнолдса та Арльта без та з аплікацією мітоміцину С) до 14,9%, тобто на 17,0% або у 2,1 рази ( $\chi^2=5,32$ ;  $p=0,021$ ).

2. Загальною тенденцією була чітка залежність розвитку рецидиву від наявності мутації V600E гена BRAF: у групах з традиційними методами хірургічного лікування за наявності мутації кількість рецидивів складала від 73,3 до 81,2%, а без мутації – від 4,2 до 10,7% ( $p<0,001$ ). Наявність мутації V600E гена BRAF підвищує ризик розвитку рецидиву протягом року після операції у 35,7 рази (ВШ=35,72; 95% ВІ 15,71-81,24).

3. Використання розробленого хірургічного методу дозволило знизити кількість рецидивів за наявності мутації V600E гена BRAF у порівнянні з традиційними методами з 77,3 до 37,5%, тобто на 39,8% або у 2,1 рази ( $\chi^2=116,02$ ;  $p<0,001$ ).

4. Наявність вірусів ВПП, ВЕБ, ЦМВ та ВПЛ та їх сполучень у тканинах птеригіуму є фактором ризику його розвитку та рецидивування після хірургічного лікування.

#### Література

1. **Fonseca E. C., Rocha E. M., Arruda G. V.** Comparison among adjuvant treatments for primary pterygium: a network meta-analysis // *Br J Ophthalmol.* – 2018. – Jun; 102 (6). – P. 748-756. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-310288. Epub 2017 Nov 16.
2. **Zhang Q., Bao N., Liang K., Tao L.** Adjuvant Use of Cyclosporine A in the Treatment of Primary Pterygium: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Cornea.* – 2018. – Aug; 37 (8). – P.1000-1007.
3. **Zein H., Ismail A., Abdelmongy M., Elsharif S., Hassanen A., Muhammad B., Assaf F., Elsehili A., Negida A., Yamane S., Abdel-Daim M.M., Kadonosono K.** Autologous blood for conjunctival autograft fixation in primary pterygium surgery: A systematic review and meta-analysis // *Curr Pharm Des.* – 2018. – Oct 1. doi: 10.2174/1381612824666181001161352. [Epub ahead of print]
4. **Рыков С. А., Могилевский С. Ю., Усенко Е. А.** Рецидивирование птеригиума после различных видов хирургического лечения: 1 год наблюдения // *Питання експериментальної та клінічної медицини.* – 2014. – Т.18 (3). – С.98-102.
5. **Gallagher M, Giannoudis A, Herrington C, Hiscott P.** Human papillomavirus in pterygium // *Br J Ophthalmol.* – 2001. – Vol. 85 (7). – P.782-784.
6. **Pieczk-Sidor M., Polz-Dacewicz M., Zagórski Z., Zarnowski T.** Occurrence of human papillomavirus in pterygia // *Acta Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 87. – P. 890-895.
7. **Chalkia A. K., Spandidos D. A., Detorakis E. T.** Viral involvement in the pathogenesis and clinical features of ophthalmic pterygium (Review) // *Int J Mol Med.* – 2013. – Sep; 32 (3). – P.539-43.
8. **Otlu B., Emre S., Turkcuoglu P., Doganay S., Durmaz R.** Investigation of human papillomavirus and Epstein-Barr virus DNAs in pterygium tissue // *Eur J Ophthalmol.* – 2009. – Vol.19. – P. 175-179.
9. **Рыков С. А., Могилевский С. Ю., Усенко Е. А.** Влияние папилломавируса и герпесвируса на рецидивирование птеригиума после хирургического лечения // *Філатовські читання* – 2016. – Одеса, 2016. – С. 31-2.
10. **Рыков С. О., Усенко К. О., Зяблицев С. В., Могилевский С. Ю.** Способ диагностики рецидивов при хирургическом лечении птеригиума. Своё детинство треба бачити // *VII наук.-практ. конф. дитячих офтальмол. з міжнар. участю.* – 2018. – С.124-6.
11. **Liu R., Zhang T., Zhu G., Xing M.** Regulation of mutant TERT by BRAF V600E/MAP kinase pathway through FOS/GABP in human cancer // *Nat Commun.* – 2018. – Feb 8; 9 (1). – P. 579.
12. **Vuong H. G., Duong U. N., Altibi A. M., Ngo H. T., Pham T. Q., Tran H. M., Gandolfi G., Hassell L.** A meta-analysis of prognostic roles of molecular markers in papillary thyroid carcinoma // *Endocr Connect.* – 2017. – Apr; 6 (3). – R8-R17.
13. **Song J. Y., Sun S. R., Dong F., Huang T., Wu B., Zhou J.** Predictive Value of BRAFV600E Mutation for Lymph Node Metastasis in Papillary Thyroid Cancer: A Meta-analysis // *Curr Med Sci.* – 2018. – Oct; 38 (5). – P. 785-797.
14. **Valachis A., Ullenhag G. J.** Discrepancy in BRAF status among patients with metastatic malignant melanoma: A meta-analysis // *Eur J Cancer.* – 2017. – Aug; 81. – P. 106-115.

15. Yang Y., Wang D., Jin L., Wu G., Bai Z., Wang J., Yao H., Zhang Z. Prognostic value of the combination of microsatellite instability and BRAF mutation in colorectal cancer // *Cancer Manag Res.* – 2018. – Sep 26;10. – P. 3911-3929.
16. Detorakis E. T., Drakonaki E. E., Spandidos D. A. Molecular genetic alterations and viral presence in ophthalmic pterygium // *Int J Mol Med.* – 2000. – Jul; 6 (1). – P.35-41.
17. Риков С. О., Могилевський С. Ю., Усенко К. О., Зяблицев С. В. Зниження частоти післяопераційних рецидивів птеригіума, завдяки модифікованому методу хірургічного лікування // *Рефракційний пленер '18.* – 2018, Жовт 18-19. – С.88-90.

Поступила 14.11.2018

## Зависимость рецидивов хирургического лечения птеригиума от наличия герпесвирусов, вируса папилломы человека и мутации V600E гена BRAF

Рыков С. А., Усенко Е. А., Могилевський С. Ю., Зяблицев С. В., Денисюк Л. И.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика; Киев (Украина)

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца; Киев (Украина)

**Введение.** В предыдущих работах мы сообщали о связи возникновения птеригиума с наличием герпесвирусов и вируса папилломы человека (ВПЧ), а также с точечной соматической мутацией V600E гена BRAF. В данном исследовании предпринята попытка выявления зависимости рецидивирования птеригиума в течение года после операции от наличия этих факторов.

**Цель исследования** – выявить зависимость возникновения рецидивов после хирургического лечения птеригиума от наличия герпесвирусов (вируса простого герпеса, цитомегаловируса, вируса Эпштейна-Барр и ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов и мутации V600E гена BRAF).

**Материал и методы.** Всего обследовано 203 пациента (232 глаза), которые были распределены на пять групп (1 группа – 49 глаз, которым было выполнена операция Мак-Рейнольдса; 2 группа – 41 глаз с использованием метода Мак-Рейнольдса с последующей аппликацией в область роговицы 0,02% раствора митомицина С; 3 группа – 49 глаз, с использованием метода Арльта; 4 группа – 46 глаз с использованием комбинации метода Арльта с митомицином С; 5 группа – 47 глаз, на которых было выполнено удаление птеригиума с помощью разработанного метода с иссечением ростовой зоны птеригиума, конъюнктивальной аутопластикой и применением 0,02% раствора митомицина С. Верификация вирусов проведена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием реактивов ООО «ДНК-технология» (РФ). Амплификацию проводили в автоматическом амплификаторе «ДТ-lite» (ООО «ДНК-технология», РФ). Определение мутации V600E гена BRAF осуществлено на тест-

системах TaqMan Mutation Detection Assays Thermo Fisher Scientific (США), амплификатор Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems, США).

**Результаты.** Разработанная методика хирургического лечения позволила снизить количество рецидивов в течение первого года после операции с 31,9% (при применении традиционных методик Мак-Рейнольдса и Арльта без и с аппликацией митомицина С) до 14,9%, то есть на 17,0% или в 2,1 раза ( $\chi^2=5,32$ ;  $p=0,021$ ). Общей тенденцией была четкая зависимость развития рецидива от наличия мутации V600E гена BRAF: в группах с традиционными методами хирургического лечения при наличии мутации количество рецидивов составило от 73,3 до 81,2%, а без мутации – от 4,2 до 10,7% ( $p<0,001$ ). Наличие мутации V600E гена BRAF повышало риск развития рецидива в течение года после операции в 36 раз (ОШ=35,72 95% ДИ 15,71-81,24). Использование разработанного метода позволило снизить также количество рецидивов при наличии мутации V600E гена BRAF по сравнению с традиционными методами с 77,3 до 37,5%, то есть на 39,8% или в 2,1 раза ( $\chi^2=116,02$ ;  $p<0,001$ ). Было показано отсутствие зависимости распределения рецидивов птеригиума по группам от наличия ВПГ, ВЭБ, ЦМВ и ВПЧ, как по отдельным вирусам, так и по их сочетаниям (во всех случаях  $p>0,1$ ).

**Вывод.** Таким образом, наличие герпесвирусов, вируса папилломы человека и мутации V600E гена BRAF является фактором риска развития птеригиума после хирургического лечения.

**Ключевые слова:** птеригиум, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус папилломы человека, мутации V600E гена BRAF.