

С. А. Рыков, Ю. А. Радченко

Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П. Л. Шупика МЗ Украины
– г. Киев, Украина

УДК 617.7–007.681–036.1–07:519.87

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Глаукома – одна из самых актуальных проблем современной офтальмологии. Для исследования общепатологических процессов, протекающих в организме больных с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) и являющихся фоном и основой для ее появления и прогрессирования, была изучена жизнеспособность мононуклеарных клеток крови (МНК), в частности лейкоцитов, по определению в культуре их спонтанного и индуцированного дексаметазоном апоптоза, некроза, а также индекса индукции апоптоза. Было изучено состояние митохондриальной активности у больных с различной степенью тяжести глаукомного процесса. Также были изучены уровни содержания в клеточной популяции МНК с признаками гиперактивации митохондрий у пациентов с ПОУГ. На основании полученных данных разработана математическая модель развития заболевания, а также критерии прогнозирования тяжести течения ПОУГ.

Ключевые слова: *первичная открытоугольная глаукома, мононуклеарные клетки крови, функциональный резерв, индекс индукции апоптоза, митохондриальный мембранный потенциал, прогнозирование тяжести течения.*

Глаукома – одна из самых актуальных проблем современной офтальмологии. Среди причин слепоты и утраты трудоспособности она занимает одно из ведущих мест во всем мире. В первичной структуре инвалидности по зрению в Украине глаукома составляет 15%, ее интенсивный показатель составляет 0,24 на 10 000 взрослого населения. Среди инвалидов вследствие глаукомы в нашей стране первая группа составляет 36,7%, вторая – 14,8%, третья – 48,6% [5]. Высокий уровень недиагностированных случаев, прогрессирующее течение заболевания, которое приводит к неизлечимой слепоте и инвалидности, значительные экономические расходы на лечение, которые во много раз возрастают в развитой стадии заболевания, говорят о необходимости внедрения скрининга глаукомы, пересмотра и разработки новых принципов и подходов к решению важнейших задач на организационном, методическом, лечебно-диагностическом этапах, а также на этапе диспансерного наблюдения. [9].

Глаукома – это мультифакторное заболевание с пороговым эффектом [7]. В развитии первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) играют роль генетические факторы, нарушения гидродинамики глаза, нейроваскулярные и иммунологические расстройства. Практически постоянно глаукоме сопутствуют заболевания сердечно-сосудистой системы, эндокринологические нарушения [6, 23].

До сих пор, к сожалению, многие аспекты особенностей патогенеза этого заболевания остаются неизвестными. Изучение этих проблем может послужить

источником для поиска новых, патогенетически обоснованных путей терапевтического воздействия.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) характеризуется прогрессирующим течением, развитием оптической нейропатии, со снижением светочувствительности сетчатки и специфичной глаукомной экскавацией диска зрительного нерва.

На данный момент глаукому рассматривают также и как нейродегенеративное заболевание, так как при ПОУГ дегенеративным изменениям подвергаются не только ганглионарные клетки сетчатки и волокна зрительного нерва, но и ткани проводящих путей зрительного анализатора вплоть до коры головного мозга [18, 2]. Общим для нейродегенеративных заболеваний и ПОУГ также является: гибель нервных клеток путем апоптоза, пожилой возраст пациентов, увеличение заболеваемости с возрастом, генетическая детерминированность, длительный латентный период (6–10 лет).

В течение нескольких последних лет было установлено, что митохондриальная дисфункция участвует в развитии нейродегенерации и, следовательно, является одной из причин прогрессирования нейродегенеративных процессов при ПОУГ [12]. Как правило, при митохондриальной патологии происходит поражение органов и тканей с высокой метаболической активностью (как, например, сетчатка и зрительный нерв) [15]. При исследовании митохондрий аксонов зрительного нерва у животных с экспериментальной глаукомой патологические изменения митохондрий были выявлены в 97% органелл [1]. Есть

исследования, которые указывают на возможность того, что митохондриальная дисфункция у некоторых людей является предрасполагающим фактором в развитии ПОУГ [16]. В клинических исследованиях в периферической крови больных ПОУГ наблюдалось увеличение количества мутаций митохондриальной ДНК (митДНК) и снижение на 20% окислительной митохондриальной активности по сравнению с контрольной группой пациентов того же возраста [13]. Существуют исследования, подтверждающие связь устойчивости к прогрессированию глаукомной оптической нейропатии с системной митохондриальной эффективностью. Так, при исследовании выделенных лимфоцитов крови и мочи у таких «устойчивых лиц» обнаружили значительно более высокие темпы АДФ фосфорилирования митохондриальным респираторным комплексом I, II и IV, гиперполяризованный митохондриальный мембранный потенциал, более высокий уровень митохондриальной ДНК и расширение потенциала для борьбы с цитозольной перегрузкой кальцием и экзогенным оксидативным стрессом [21].

В основе прогрессирования ПОУГ лежит гибель ганглионарных клеток сетчатки, происходящая преимущественно путем апоптоза [19, 22]. Апоптоз – энергозависимый процесс, он имеет множество факторов и путей, но все они связаны с митохондриями как основной единицей, ответственной за энергетические процессы в клетке [20].

Для исследования общепатологических процессов, протекающих в организме больных с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) и являющихся фоном для ее развития, была изучена жизнеспособность мононуклеарных клеток крови, в частности – лейкоцитов. Мононуклеарные клетки крови (МНК) являются клетками иммунной системы, которая вместе с нервной системой регулирует метаболические процессы организма. В связи с разнообразием функций МНК имеют на своей мембране очень широкий спектр рецепторов к различным гормонам, цитокинам и даже нейропептидам и могут отражать общее состояние организма, его гормональный и цитокиновый статус [11]. Характер физиологического ответа клеток и систем отражает их потенциальные резервные возможности. Возможно изучение функционального состояния МНК по определению в культуре их спонтанного и индуцированного дексаметазоном *in vitro* апоптоза [3]. Уровень апоптоза и индекс индукции апоптоза (жизнеспособности) МНК является актуальным и отражает общие патологические тенденции в организме, являющиеся фоном и основой для появления и прогрессирования ПОУГ [4].

Также является актуальным изучение состояния митохондриальной активности у больных с различ-

ной степенью тяжести глаукомного процесса. Функциональное состояние митохондрий характеризует митохондриальный мембранный потенциал (ММП). Исследование этого показателя также актуально проводить в мононуклеарных клетках крови (МНК). При этом представляет интерес выяснение уровня содержания в клеточной популяции МНК с признаками гиперактивации митохондрий у пациентов с ПОУГ, а также наличие корреляции их количества со степенью тяжести ПОУГ.

На основании полученных данных возможно разработать математическую модель развития заболевания, а также критерии прогнозирования тяжести течения ПОУГ у больных, основываясь на показателях функционального резерва иммунных клеток организма и данных исследования митохондриального мембранного потенциала, в частности уровня содержания в клеточной популяции МНК с признаками гиперактивации митохондрий у пациентов с ПОУГ с разной степенью тяжести заболевания.

Цель: разработать математическую модель прогнозирования течения первичной открытоугольной глаукомы на основании показателей функционального резерва и митохондриального мембранного потенциала мононуклеарных клеток крови.

Материалы и методы. В исследовании принимал участие 61 пациент. Исследовались образцы крови. Было сформировано 2 группы исследуемых. Основная группа (n=34) – больные с первичной открытоугольной глаукомой I–IV стадий с разной степенью нормализации внутриглазного давления и возрастной катарактой. В свою очередь, основная группа была разделена на 4 подгруппы: 1-я – больные с ПОУГ не более I стадии на одном или обоих глазах; 2-я – больные с ПОУГ не более I–II стадий на одном или обоих глазах; 3-я – больные с ПОУГ I–III стадий на одном или обоих глазах; 4-я – больные с ПОУГ I–IV стадий на одном или обоих глазах. Контрольная группа (n=27) – больные с диагнозом возрастной катаракты. Возраст пациентов в обеих группах колебался от 42 до 74 лет. В исследование не включались пациенты с сахарным диабетом, аутоиммунными заболеваниями, заболеваниями соединительной ткани, значительным поражением сердечно-сосудистой системы (инфаркты и инсульты в анамнезе). Из общих заболеваний у некоторых пациентов наблюдалась гипертоническая болезнь 1–2 степени. Распределение больных по полу и возрасту во всех исследуемых группах носило однородный характер.

Выделение лейкоцитов: лейкоциты выделяли из цельной периферической крови (антикоагулянт КЗЭДТА) на градиенте плотности (раствор фикола и урографина d=1,077–1,078), центрифугированием в течение 30 минут при 1000 g.

Индукция апоптоза: ресуспензированные лейкоциты перенесли в две пробирки Епендорфа (конечная концентрация клеток составляет 10^6 кл./мл), в одну добавляли 20 мкл дексаметазона (индуктора апоптоза), а во вторую – 80 мкл инкубационной среды (RPMI-1640, 10% ЕТС) инкубировали при 37°C в термостате в течение 18 часов.

Функциональный резерв иммунных клеток оценивали по показателям индекса индукции апоптоза (ИИА), а нарушения энергообмена – по изменению митохондриального мембранного потенциала (ММП).

Исследование уровня апоптоза проводили с использованием набора для определения апоптоза Annexin V-FITC Apoptosis detection Kit I (BD Bioscience Pharmingen, США) и определения *изменений мембранного потенциала митохондрий* по методике с родамином 123 («Fluka») и пропидий йодидом на проточном цитометре PAS (Partec, Германия) [14, 17].

Родамин 123 накапливается в мембранах митохондрий зависимо от поляризации мембран. При этом количество инкорпорированного родамина 123 прямо пропорционально разности потенциала мембран митохондрий. Таким образом, накопление родамина 123 указывает на клетки с активными и гиперактивными митохондриями, а способность накапливать пропидий йодид указывает на нарушение проницаемости цитоплазматической мембраны. Клетки, которые в своих митохондриях накопили родамина 123 в среднем больше, светятся интенсивнее и соответственно идентифицируются как клетки с гиперактивированными (гиперполяризованными) митохондриями.

Дифференцировка клеток по типу гибели происходила следующим образом: 1) родамин 123 (-)/пропидий йодид (-) – клетки, погибшие путем апоптоза; 2) родамин 123 (-)/пропидий йодид (+) – клетки, погибшие путем некроза; 3) родамин 123 (+)/пропидий йодид (-) – клетки с неизменным митохондриальным потенциалом; 4) родамин 123 (+)/пропидий йодид (+) – клетки с нарушением интактности цитоплазматических мембран.

Концентрацию лейкоцитов подсчитывали на проточном цитометре абсолютным волнометрическим методом.

Статистическую обработку проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 21, применяли: описательную статистику, дисперсионный анализ, регрессионный анализ, анализ корреляций, факторный анализ, кластерный анализ и линейное моделирование [8].

Результаты и их обсуждение. Ранее было показано, что определение индекса индукции апоптоза дает представление о функциональном состоянии иммунных клеток. Также было показано, что у пациентов с подтвержденным диагнозом ПОУГ независимо от

стадии развития наблюдаются статистически достоверные ($p < 0,05$) изменения индекса индукции апоптоза. Так, в 1-й группе ИИА был равен $0,916 \pm 0,157$ у.е., во 2-й – $0,724 \pm 0,107$ у.е., в 3-й – $0,924 \pm 0,151$ у.е., в 4-й – $0,991 \pm 0,262$ у.е. относительно значений контрольной группы $0,791 \pm 0,124$ у.е. (рис. 1) [10]. При корреляционном анализе были выявлены статистически значимые корреляции между группой и показателем ИИА ($r=0,324$; $p=0,03$). Таким образом была выявлена корреляция между показателями ИИА и тяжестью течения ПОУГ.

Также нами были изучены уровни содержания МНК с гиперактивированными митохондриями в зависимости от степени тяжести ПОУГ. Было выявлено практически линейное снижение количества гиперактивированных МНК по мере нарастания тяжести заболевания. Так, в первой группе – $1,24 \pm 0,71$ %, во второй – $1,12 \pm 0,40$ %, в третьей – $0,79 \pm 0,40$ % и $0,76 \pm 0,40$ % в четвертой (рис. 2).

Дальнейший математический анализ результатов, а именно – факторный анализ, позволил выявить показатели, которые являются критическими для прогнозирования тяжести течения ПОУГ. Метод главных компонент выявил значимость показателей общего апоптоза (0,927), показателей количества клеток с признаками гиперполяризованности митохондриальных мембран (0,788) и некроза (0,556).

Таким образом, были определены факторы, оказывающие значительное влияние на прогнозирование тяжести ПОУГ, а именно – показатели уровня некроза, общего апоптоза, уровня клеток с признаками гиперполяризованности митохондриальных мембран. Детерминирующим показателем был выявлен показатель индекса индукции апоптоза. Были рассчитаны уравнения, описывающие зависимость тяжести течения заболевания от показателей значений выявленных параметров, что позволяет прогнозировать течения заболевания.

Линейное моделирование процессов позволило определить ряд уравнений, дающих возможность прогнозировать тяжесть течения ПОУГ.

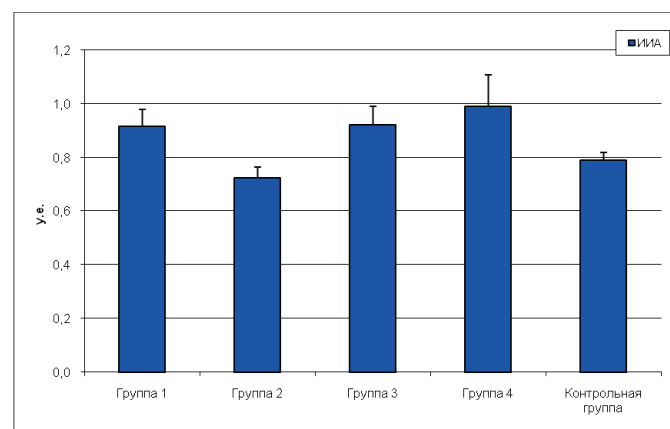


Рис. 1. Изменение индекса индукции апоптоза лейкоцитов в зависимости от стадии ПОУГ

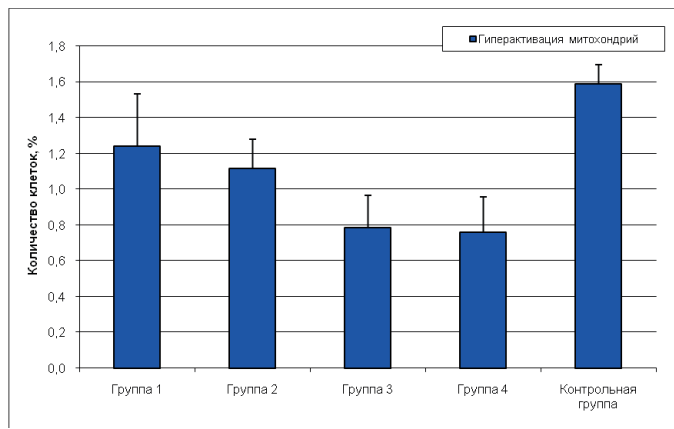


Рис. 2. Изменения количества гиперактивированных МНК в зависимости от стадии ПОУГ

Так, зависимость тяжести ПОУГ от показателей некроза с применением метода наименьших квадратов описывается прогностическим уравнением 1:

$$y = -0,64 + 5,579x - 3,37x^2 + 0,54x^3, \quad (1)$$

где x – значение показателей уровня некротических клеток.

Как было показано ранее, прогностические характеристики показателей некроза МНК больных ПОУГ имеют волнообразный характер, что в свою очередь обеспечивает повышенное внимание к точкам апогея кривой и назначения профилактики в большем количестве случаев, но при этом не дает возможность пропустить состояния, требующие повышенного внимания. В случае получения результатов, вызывающих сомнения, рекомендуется пройти дообследование уровня индекса индукции апоптоза (рис. 3).

Уровень клеток с признаками гиперполяризованности митохондриальных мембран описывается прогностическим уравнением 2:

$$y = 1,43 - 1,60 \log(x), \quad (2)$$

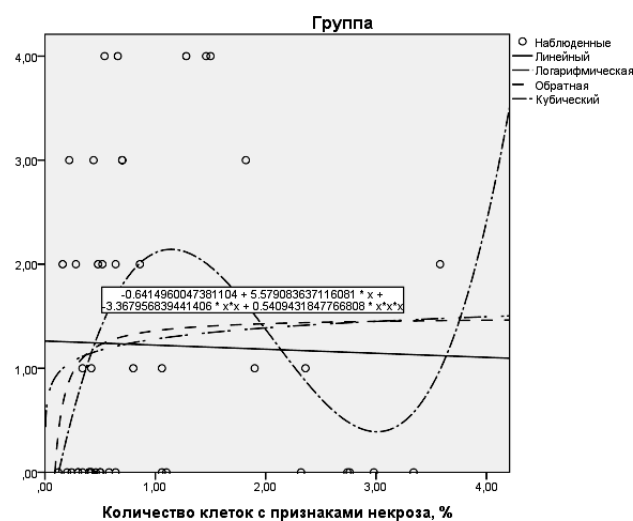


Рис. 3. Зависимость тяжести ПОУГ от значений количества МНК с признаками некроза



Рис. 4. Зависимость тяжести ПОУГ от значений количества МНК с признаками гиперполяризации мембран митохондрий

где x – значение показателей уровня клеток с признаками гиперполяризованности митохондриальных мембран.

Как видим из рис. 4, зависимость количества МНК с признаками гиперполяризации митохондриальных мембран носит обратно пропорциональный нелинейный характер. Исходя из показателей наименьших квадратов, выявлена логарифмическая зависимость данного показателя.

Уровень клеток с признаками апоптоза описывается прогностическим уравнением 3:

$$y = 1,19 - 0,001x^2 + 5,36 \cdot 10^5 x^3, \quad (3)$$

где x – значение показателей уровня клеток с признаками апоптоза.

Графическое отображение зависимости представлено на рис. 5, согласно которому видна нелинейная зависимость параметра и степени тяжести ПОУГ.

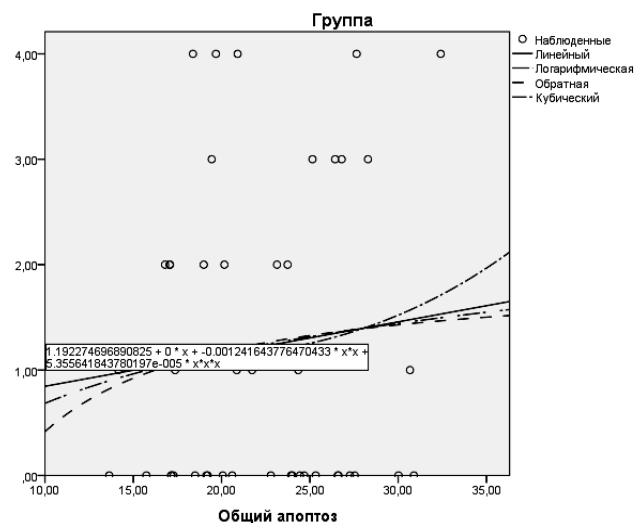


Рис. 5. Зависимость тяжести ПОУГ от значений количества МНК с признаками апоптоза

Как было отмечено ранее, детерминирующим показателем тяжести ПОУГ являются значения индекса индукции апоптоза. Данная зависимость графически представлена на рис. 6 и описывается уравнением 4.

$$y = -1,19 + 9,21x - 14,02x^2 + 7,46x^3, \quad (4)$$

где x – значение показателей ИИА.

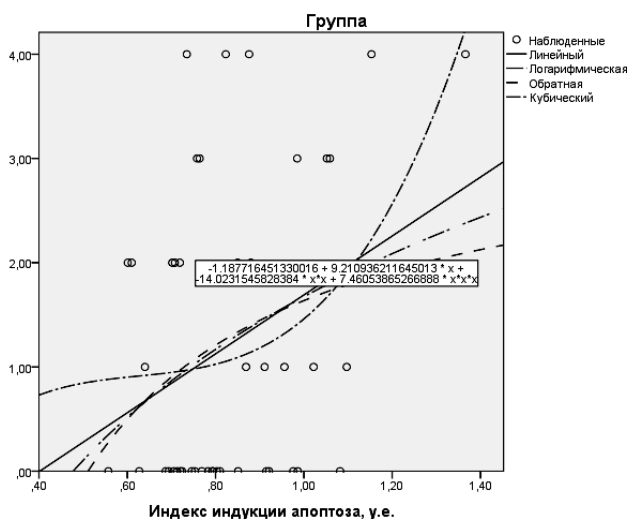


Рис. 6. Зависимость тяжести ПОУГ от показателей индекса индукции апоптоза

Таким образом, математическая обработка результатов выявила закономерности развития тяжести ПОУГ, определила значимые факторы прогноза тяжести течения ПОУГ и позволила выявить прогностические уравнения тяжести развития ПОУГ, которые могут быть использованы в каждодневной практике врача-офтальмолога. Также была показана эффективность и диагностическая значимость определения функционального резерва иммунных клеток по значению индекса индукции апоптоза в диагностике и прогнозировании течения ПОУГ.

Выводы

Проведенные исследования позволяют рекомендовать изучение функционального резерва клеток иммунной системы как интегрального прогностического маркера развития ПОУГ.

На основании результатов исследования в мононуклеарных клетках крови показателей общего апоптоза, индекса индукции апоптоза, количества клеток с признаками гиперполяризованности митохондриальных мембран и некроза разработана математическая модель прогнозирования течения заболевания.

Использование предложенных уравнений позволяет прогнозировать тяжесть течения ПОУГ, основываясь на динамике изменений четырех указанных показателей.

Литература

1. Алексеев В.Н. Состояние митохондрий аксонов зрительного нерва при экспериментальной глаукоме / В. Н. Алексеев, Е. Б. Мартынова, И. Р. Газизова // Восток – Запад 2011: научно-практическая конференция по офтальмохирургии с международным участием: сборник научных трудов. – Уфа, 2011. – С. 156.
2. Газизова И.Р. Нейродегенеративные изменения в головном мозге при глаукоме (обзор литературы) / И. Р. Газизова // РМЖ «Клиническая Офтальмология». – 2012. – №3. – С. 88.
3. Патент № 65985 А Україна. Спосіб оцінки функціонального резерву мононуклеарних клітин крові з використанням принципу «золотого перерізу» / К. М. Ігрунова – 2004 р.
4. Ігрунова К.Н. Апоптоз мононуклеарных клеток крови у больных с патологией сердечно-сосудистой системы / К. Н. Ігрунова, М. М. Моторна, Т. И. Степачова // Лабораторная диагностика. – 2004. – № 1. – С. 16–18.
5. Іпатов А.В. Основні показники інвалідності та діяльності медико-соціальних експертних комісій України за 2014 рік: аналітико-інформаційний довідник / А. В. Іпатов, В. А. Мороз, Р. Я. Голик [та ін.] – Дніпропетровськ: Акцент ПП, 2015. – 166 с.
6. Кашинцева Л.Т. Открытоугольная глаукома как локальное проявление общих сосудистых проявлений / Л. Т. Кашинцева // IV Всесоюзный съезд офтальмологов: тез. докл. – М., 1985. – Т.2. – С. 37-38.
7. Нестеров А.П. Глаукома / А. П. Нестеров. – М.: МИА, 2008. – 360 с.
8. Петри А. Наглядная медицинская статистика / А. Петри, К. Сэбин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 168 с.
9. Рыков С.А. Скрининг первичной глаукомы — за или против? Приглашение к дискуссии / С. А. Рыков, О. П. Витовская // Клини. Офтальмология. – 2010. – № 4 (11). – С. 131–134.
10. Рыков С.А. Изменения функционального состояния мононуклеарных клеток крови у больных с первичной открытоугольной глаукомой / С. О. Рыков, К. М. Ігрунова, Ю. О. Радченко // Архів Офтальмології України. – 2015. – Т.3. – №2. – С. 44–49.
11. Фрейдлин И.С. Структура, функции и регуляция иммунной системы / И. С. Фрейдлин // Иммунодефицитные состояния / Под ред. В. С. Смирнова, И. С. Фрейдлин. – СПб.: «Фолиант», 2000. – С. 17–90.
12. Судаков Н.П. Митохондриальна дисфункція як один з механізмів патогенезу нейродегенеративних захворювань / Н. П. Судаков, В. А. Дєєв,

- С. Б. Нікіфоров, О. А. Девіна // Лабораторна діагностика. – 2008. – № 2 (44). – С. 58–65.
13. *Abu-Amero K.K.* Mitochondrial abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma / K. K. Abu-Amero, J. Morales, T. M. Bosley // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2006. – Vol. 47. – No. 6. – P. 2533–2541.
 14. Apoptosis: Applied Reagent and Technologies: instruction manual. – [2nd ed.]. – BD Bioscience, 1998. – P. 99.
 15. *Barron M.J.* The distributions of mitochondria and sodium channels reflect the specific energy requirements and conduction properties of the human optic nerve head / M. J. Barron, P. Griffiths, D. M. Turnbull [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2004. – Vol. 88. – P. 286–290.
 16. *Izzotti A.* Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma / A. Izzotti, S. C. Sacca, M. Longobardi [et al.] // *Arch. Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 128. – No. 6. – P. 724–730.
 17. *Ormerod M.G.* Flow cytometry: handbooks, manuals, etc. / M. G. Ormerod – [II Series]. – 2000. – P. 277–278.
 18. *Gupta N.* Glaucoma as a neurodegenerative disease / N. Gupta, Y. H. Yucel // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 2007. – № 2. – P. 110–114.
 19. *Garcia-Valenzuela E.* Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma / E. Garcia-Valenzuela, S. Shareef, J. Walsh // *Exp. Eye Res.* – 1995. – 61:33–44/8.
 20. *Kerr J. F.* Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J. F. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie // *British Journal of Cancer.* – 1972 – Vol. 26. – P. 239–257.
 21. *Lascaratos G.* Resistance to the most common optic neuropathy is associated with systemic mitochondrial efficiency / G. Lascaratos, K. Y. Chau, H. Zhu [et al.] // *Neurobio Dis.* – 2015. – 82:78–85.
 22. *Ling Z.H.* Glia 1 cell and glaucomatous optic neuropathy / Z. H. Ling, X. H. Sun // *Prog Retin Res.* – 2013. – 31(2):152–181.
 23. *Pashe M.* A sick eye in a sick body? Systemic findings in patients with primary open-angle glaucoma / M. Pashe, J. Flammer // *Surv. Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 51. – No. 3. – P. 179–212.

МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ПЕРВИННОЇ ВІДКРИТОКУТОВОЇ ГЛАУКОМИ

С. О. Рыков, Ю. О. Радченко

Глаукома – одна з найактуальніших проблем сучасної офтальмології. Для дослідження загальнопатологічних процесів, що перебігають в організмі хворих на первинну відкритокутову глаукому (ПВКГ), які є фоном та основою для її появи та прогресування, була вивчена життєздатність мононуклеарних клітин крові (МНК), зокрема лейкоцитів, з визначенням у культурі їх спонтанного та індукованого дексаметазоном апоптозу, некрозу, а також індексу індукції апоптозу. Було вивчено стан мітохондріальної активності у хворих з різним ступенем важкості глаукомного процесу. Були вивчені рівні вмісту у клітинній популяції МНК з ознаками гіперактивації мітохондрій у пацієнтів з ПВКГ. На базі отриманих результатів розроблено математичну модель розвитку захворювання, а також критерії прогнозування важкості перебігу ПВКГ.

Ключові слова: *первинна відкритокутова глаукома, мононуклеарні клітини крові, функціональний резерв, індекс індукції апоптозу, мітохондріальний мембранний потенціал, прогнозування важкості перебігу.*

MATHEMATICAL MODEL FOR PROGNOSTICATION OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA COURSE

S. O. Rykov, Yu. O. Radchenko

National medical academy of Postgraduate education named after P.L. Shupyk
of the Ministry of Public Health of Ukraine
Kyiv, Ukraine

Abstract. Glaucoma is one of the most urgent problems of modern ophthalmology. To investigate the general pathological processes occurring in the body of patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and which are the background and foundation for its occurrence and progression, there was studied the viability of blood mononuclear cells (MNC) in particular leukocytes by definition of their spontaneous and induced by dexamethasone apoptosis, necrosis, as well as an index of apoptosis induction in the culture. There was studied the state of mitochondrial activity in patients with different degrees of severity of glaucomatous process.

Objective: To develop mathematical model for prognostication of the disease course on the basis of functional reserve and mitochondrial membrane potential of blood mononuclear cells in patients with primary open angle glaucoma (POAG).

Object and research methods. The study involved 61 patients. Blood samples were investigated. There were formed 2 groups. The main group (n = 34) consisted of patients with the diagnosis of primary open-angle glaucoma of stages I-IV, with varying degrees of normalization of intraocular pressure and age-related cataract. Whereas the main group was divided into 4 subgroups: 1 – patients with POAG of stage not more than I in one or both eyes; 2 – patients with POAG of stage not more than I-II in one or both eyes; 3rd - POAG patients with stage I-III in one or both eyes; 4 – patients with POAG of stage I-IV in one or both eyes. The control group (n = 27) consisted of patients with a diagnosis of age-related cataract. The study did not include patients with diseases with an autoimmune component, a significant defeat of the cardiovascular system. The distribution of patients according to sex and age in all groups had a homogeneous character.

Results and discussion. The induction of apoptosis was conducted by dexamethasone in apoptosis-inducing concentration.

The study of apoptosis level was conducted using Annexin V-FITC Apoptosis detection Kit I (BD Bioscience Pharmingen, the USA). The determination of mitochondrial membrane potential changes was performed by the standard method with rhodamine 123 (“Fluka”) on a flow cytometer PAS (Partec, Germany).

The concentration of cells on a flow cytometer was evaluated by absolute volumetric method on cytometer.

The statistical processing was performed using IBM SPSS Statistics 21 program. There were used the following methods: descriptive statistics, analysis of variance, regression analysis, correlation analysis, factor analysis, cluster analysis and linear modeling.

Results and discussion. Further mathematical analysis of the results, namely factor analysis helped to reveal indices that are critical for prognostication of the severity of POAG. The principal component analysis revealed the importance of general apoptosis indices (0.927), indices of the number of cells with signs of hyper polarization ability of mitochondrial membranes (0.788) and necrosis (0.556). Thus, there were detected the factors that had a significant impact on the prognostication of the severity of POAG, namely indices of necrosis level, common apoptosis, cell level with signs of hyper polarization ability of mitochondrial membranes; the determining indicator revealed the apoptosis induction index. There were calculated equations describing the dependence of the disease severity on the indices of identified parameters that allow us to predict the disease course.

Conclusions.

1) The research allows us to recommend the study of functional reserve of the immune system cells as an integral prognostic marker of the development of POAG.

2) On the basis of the research results of general apoptosis indicators, apoptosis induction index, the number of cells with signs of hyper polarization ability of mitochondrial membrane and necrosis there was developed a mathematical model for prognostication of the disease course.

3) The usage of the suggested equations allows us to predict the severity of POAG based on the dynamics of changes in these four indicators.

Key words: *primary open-angle glaucoma, blood mononuclear cells, functional reserve, apoptosis induction index, mitochondrial membrane potential, prognostication of the course.*

Стаття надійшла до редакції 14.04.2016 р.