

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования
РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

На правах рукописи

Торопова Ольга Сергеевна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ
ТЕРАПИИ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ
(КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.5. Офтальмология (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Бровкина Алевтина Фёдоровна,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Научный консультант:
Сычев Дмитрий Алексеевич,
доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Понятие об эндокринной офтальмопатии	14
1.2. Глюкокортикоидная терапия эндокринной офтальмопатии и история ее развития	17
1.3. Глюкокортикоидный рецептор и его роль в формировании терапевтического ответа на глюкокортикоидную терапию	19
1.4. Цитохром P450, его полиморфизм в формировании глюкокортикоидного ответа	23
1.5. МикроРНК и эндокринная офтальмопатия	25
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2. 1. Общая характеристика больных	28
2.2. Методики исследования больных	31
2.2.1. Визуализирующие методы исследования	32
2.2.2. Патоморфологическое исследование биоптата	33
2.2.3. Молекулярно-генетические методы исследования	33
2.3. Методики лечения больных	36
2.3.1. Медикаментозная терапия	36
2.3.2. Хирургическое лечение.....	37
2.4. Статистическая обработка данных.....	38
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	40
3.1. Особенности течения клинических форм эндокринной офтальмопатии	40
3.1.1. Клиническое течение миогенного и смешанного варианта отечного экзофтальма	43
3.1.2. Особенности клинического течения липогенного варианта отечного экзофтальма	50
3.1.3. Клиническое течение эндокринной миопатии.....	55
3.2. Особенности клинического течения эндокринной офтальмопатии с различным «ответом» на глюкокортикоидную терапию (эффективность, резистентность).....	59
3.3. Результаты генотипирования по полиморфизму генов <i>NR3C1</i> , <i>CYP3A4</i> и <i>CYP3A5</i>	69
3.4. МикроРНК-146а и микроРНК-155 у больных эндокринной офтальмопатией, результаты исследования	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	79

ВЫВОДЫ.....	82
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	83
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	84
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	85

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Эндокринную офтальмопатию (ЭОП) – в зарубежной литературе офтальмопатию/орбитопатию Грейвса – диагностируют у 25–50% пациентов с болезнью Грейвса [117]. В то же время эту патологию относят и к редким заболеваниям [104].

Легкую степень ЭОП выявляют у 15% пациентов с гипертиреозом Грейвса [103], умеренно выраженное и тяжелое поражение с угрозой утраты зрения достигает 4,9% [26, 128, 149].

Патогенез ЭОП остается до конца нераспознанным [43]. Имеются публикации, подтверждающие роль факторов риска в возникновении ЭОП (генетическая предрасположенность, факторы окружающей среды, инфекция, стресс, курение), но их реальное влияние на развитие патологического процесса остается дискуссионным [142].

Сегодня не вызывает сомнения, что Т-клетки, ответственные за начало заболевания, В-клетки и орбитальные фибробласты – ключевые в развитии ЭОП. Т-клетки активируются при встрече с пептидами TSH-R (рецептор тиреоидстимулирующего гормона) на антиген-презентирующих клетках, которые начинают секретировать антитела против TSH-R. Эти антитела стимулируют фолликулярные клетки щитовидной железы и орбитальные фибробласты. Последние, пролиферируют, вызывая тем самым изменения в мягких тканях орбиты. Орбитальные фибробласты, Т-клетки и В-клетки, тесно взаимодействуя, запускают каскады иммунных и химических реакций [74, 80], что приводит к развитию патологических изменений в экстраокулярных мышцах (ЭОМ) (воспаление) и орбитальной клетчатке (адипогенез) с последующим их фиброзом [118, 142]. Показано, что медиаторами Т- и В-клеток являются цитокины (интерлейкин-2 и интерлейкин-16) [84, 94].

Многими авторами отмечена способность орбитальных фибробластов экспрессировать множественные ферменты, которые участвуют в биосинтезе гликозаминогликана, гиалуроната, что впоследствии подтверждено другими исследователями [135].

Однако все еще остается множество вопросов в расшифровке патогенеза ЭОП, не уточнены биомаркеры, позволяющие диагностировать ЭОП на раннем этапе ее развития и прогнозировать результативность проводимой терапии.

Клиника ЭОП поливариантная, что затрудняет адекватное определение сроков лечения и корректную оценку ее эффективности. Достаточно широко распространенная классификация ЭОП CAS (clinical activity score), предназначенная для оценки степени активности процесса, подвергается в последние годы все большей и обоснованной критике [14, 34, 50, 122, 126].

В своей клинической практике на протяжении 30 лет в нашем учреждении подразделяют ЭОП на 3 клинические формы с выделением в двух из них (отечный экзофтальм и эндокринная миопатия) степени компенсации патологического процесса.

Сегодня доказано, что в основе механизма развития клинических симптомов отечного экзофтальма лежит клеточная инфильтрация Т- и В-лимфоцитами, макрофагами, тучными и плазматическими клетками мягкотканого содержимого орбиты, а накопление гликозаминогликанов приводят к их избыточному отложению. Все это способствует увеличению объема экстраокулярных мышц и орбитальной клетчатки. Именно эти изменения лежат в основе развития экзофтальма. В исходе воспалительного процесса спустя 16–18 месяцев развивается фиброз орбиты [6, 31, 34, 78, 112, 136].

Местом первичной атаки патологического процесса могут быть как прямые мышцы глаза (миогенный вариант отечного экзофтальма), так и орбитальная клетчатка (липогенный вариант отечного экзофтальма) [7, 112, 136].

Чаще встречается смешанный вариант отечного экзофтальма, клиническое течение которого зависит от преобладания зоны поражения той или иной другой ткани [11].

Из представленных клинических форм ЭОП наиболее тяжело протекает отечный экзофтальм миогенной и смешанной форм. Такие больные составляют от 5 до 7% среди всей группы больных ЭОП [7].

Что касается липогенного варианта отечного экзофтальма, то к настоящему времени сложилось мнение, что у больных этой группы часть орбитальных фибробластов (преадипоциты) способны быстро дифференцироваться в зрелые адипоциты. Это и отличает их от фибробластов других локализаций [75, 76, 78, 112].

Н. Li с соавторами полагают, что орбитальные фибробласты у таких больных на фоне повышенной чувствительности к воспалительным цитокинам могут приобретать внутренний фибропролиферативный фенотип с формированием фиброза [82].

Более 65 лет основным методом патогенетического лечения больных ЭОП являются глюкокортикоиды (ГК). Наряду с положительными результатами лечения отмечают наличие и стероидорезистентных форм ЭОП, частота которых колеблется в пределах 4–5% [34].

По мнению других авторов, число пациентов, не реагирующих на ГКТ, может составлять 20–30% [140]. Получаемый удовлетворительный ответ на ГКТ у 60–80% пациентов связывают с межиндивидуальной изменчивостью [70].

На молекулярном уровне ГК оказывают свои лечебные эффекты на клетки-мишени путем связывания с глюкокортикоидным рецептором *NR3C1* под влиянием ферментов, принимающих участие в метаболизме стероидов [98]. Наибольшую роль играют ферменты *CYP3A4* и *CYP3A5* системы цитохрома P450 [93, 125].

Причины формирования резистентности к ГК до конца неизвестны. В последнее время в литературе появились сведения, что одной из причин неэффективного лечения ГК аутоиммунных заболеваний могут быть индивидуальные генетические особенности, обусловленные наличием полиморфных вариантов генов глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* и ферментов системы цитохрома P450 [64, 89, 99].

Полагают, что полиморфизм гена ферментов оказывает влияние на эффективность терапии «не только за счет изменения процессов всасывания и экскреции препаратов, но также за счет структуры и функции рецептора, на которые воздействуют лекарственные вещества» [132].

Выявлена роль полиморфных вариантов гена *NR3C1* и цитохрома P450 на формирование резистентности к глюкокортикоидам при некоторых аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, бронхиальная астма, болезнь Крона и неспецифический язвенный колит) [19, 65, 123, 109].

Эндокринную офтальмопатию тоже относят к аутоиммунным заболеваниям, и она также может быть представлена стероидорезистентными формами. Было показано, что активизация воспаления у больных ЭОП обусловлена дисбалансом в перекрестных помехах между *NR3C1* и *NFKB* – медиатором воспаления [78]. Показано, что полиморфизм гена *NR3C1* N363S (rs6195), ВСП (rs41423247) ассоциированы с повышенной чувствительностью к ГК, а ER/23ЕК (rs6189/rs6190), TthIII (rs10052957), 9β (rs6198), rs6196, rs7701443, rs860457 связаны с резистентностью к ГК путем подавления экспрессии гена *NR3C1* [19, 73, 123, 125, 109].

В отечественной и зарубежной литературе данные о влиянии полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* и цитохрома P450 на глюкокортикоидный ответ у пациентов ЭОП единичны и противоречивы.

Авторы зарубежного исследования не обнаружили влияние полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* на терапевтический ответ у больных орбитопатией Грейвса, объясняя причину полученных результатов малой когортой пациентов (40 человек), позволяющих обнаружить достоверное значение для генетического исследования, так как частота полиморфизма гена *NR3C1* очень низка [140].

В то же время отечественные исследователи доказали в качестве причины формирования истинной стероидорезистентности присутствие полиморфного варианта 39739 G>A/rs6189 гена *NR3C1* по гетерозиготному типу [24].

Наряду с генетическими факторами, влияющими на глюкокортикоидный ответ, в литературе имеются сведения, указывающие на роль эпигенетических ме-

ханизмов развития ЭОП и формирования стероидорезистентности. Это относится к микроРНК, различный уровень экспрессии которых в плазме крови оказывает влияние на течение заболевания и формирование глюкокортикоидного ответа у больных ЭОП [62, 66, 67, 133, 146].

В ряде зарубежных исследований доказано участие микроРНК-21, микроРНК-27а, микроРНК-27b, микроРНК-146а, микроРНК-155 в тяжести течения ЭОП и формировании негативного ответа на проводимую глюкокортикоидную терапию, однако в отечественной литературе до настоящего времени аналогичные работы не проводились.

Таким образом, малое количество работ и их противоречащие результаты о влиянии генетических и эпигенетических механизмов на формирование отрицательного глюкокортикоидного ответа у больных ЭОП, послужили основой для изучения влияния генетического полиморфизма глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* и ферментов системы цитохрома P450, уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 на особенности клинического течения эндокринной офтальмопатии, эффективность глюкокортикоидной терапии и выявление факторов формирования стероидорезистентности.

Цель исследования: определить критерии прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии эндокринной офтальмопатии на основе клинического исследования и генетического тестирования.

Задачи исследования

1. Изучить эффективность глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией с учетом клинической формы, длительности анамнеза заболевания и сопоставить полученные результаты с "ответом" на глюкокортикоидную терапию (эффективность, резистентность).

2. Выявить связь индивидуального "ответа" на глюкокортикоидную терапию (эффективность, резистентность) с особенностями клинической картины и длительностью анамнеза заболевания.

3. Оценить ассоциации носительства генотипов по полиморфным маркерам rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* с эффективностью глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией.

4. Оценить степень влияния уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 на эффективность глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией.

5. Определить возможности применения результатов фармакогенетического тестирования по полиморфным маркерам rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5*, микроРНК-146а и микроРНК-155 для индивидуального прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией.

Научная новизна

Полученные результаты сопоставимы с ранее опубликованными (Tong Boding, Xiao Man-Y., Zeng Jie-X., Xiong W., 2009; Vannucchi G., Covelli D., Campi I., Origo D., Curro N., Cirello V., Dazzi D., Beck-Peccoz P., Salvi M., 2013; Kaijun L., Yi D., Ben-Li J., Jian-Feng H., 2018; Саакян С. В., Пантелеева О. Г., Батырбекова Ф. Х., Сирмайс О. С., Мартиросян Н. С., Петунина Н. А., Цыганков А. Ю., Логинов В. И., Бурденный А. М., 2019). Научной новизной характеризуются следующие данные.

Доказано отсутствие влияния генотипа полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* на формирование резистентности к глюкокортикоидам у больных эндокринной офтальмопатией, что определяет нецелесообразность их использования в качестве биомаркера прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии.

Доказано, что повышение уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови является свидетельством негативного ответа на глюкокортикоидную терапию у больных эндокринной офтальмопатией и может быть использовано для составления прогноза развития нежелательных побочных эффектов и определения тактики лечения пациентов с повышенным уровнем экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови.

Установлено, что критериями прогноза эффективности глюкокортикоидной терапии эндокринной офтальмопатии являются клиническая форма и длительность анамнеза заболевания, повышенные уровни экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови.

Положения, выносимые на защиту

1. Подтверждена целесообразность выделения клинических форм (отечный экзофтальм и эндокринная миопатия), составляющих понятие «эндокринная офтальмопатия». Эффективность глюкокортикоидной терапии зависит от клинической формы и длительности анамнеза заболевания, что позволяет использовать их в качестве клинических критериев прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП.

2. Установлено отсутствие связи между генотипом полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* и терапевтическим ответом на глюкокортикоидную терапию у больных ЭОП тогда, как повышенный уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови ассоциирован с формированием отрицательного глюкокортикоидного ответа, что позволяет использовать их в качестве биомаркера прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП.

Теоретическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в том, что изученные связи ответа на глюкокортикоидную терапию с особенностями клинической картины и длительностью анамнеза заболевания, ассоциация повышенного уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 с формированием резистентности к глюкокортикоидам у больных эндокринной офтальмопатией расширяют знания и сферы их применения в офтальмологии.

Практическая значимость работы. Практическая значимость работы заключается в том, что выделена группа критериев – клинические (клиническая форма эндокринной офтальмопатии, длительность анамнеза) и диагностические (повышенный уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови), которые имеют между собой тесную корреляционную связь и могут быть использованы в практической офтальмологии в качестве критериев прогнозирования

ния эффективности глюкокортикоидной терапии больных эндокринной офтальмопатией. Практическая значимость результатов, полученных при выполнении диссертационного исследования, подчеркивается поданной заявкой на патент "Способ диагностики липогенного варианта отечного экзофтальма" №2021123794 от 10.08.2021 г.

Предметом исследования явилась проблема прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии эндокринной офтальмопатии с учетом клинико-генетического исследования.

Объект исследования – 75 пациентов разными клиническими формами эндокринной офтальмопатии в возрасте от 27 до 84 лет (средний возраст – $52,65 \pm 12,6$ года), женщин – 58 (77,3%), мужчин – 17 (22,7%).

Методология и методы диссертационного исследования

Клиническое исследование проводилось на базе кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Молекулярно-генетическое исследование выполнялось на базе отдела молекулярной медицины Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90038.

Всем пациентам проводили комплексное клинико-инструментальное обследование: сбор жалоб, анализ анамнеза заболевания и анамнеза жизни с учетом состояния функции щитовидной железы; классическое офтальмологическое обследование: визометрия с помощью проектора знаков и стандартного набора стекол, тонометрия по Маклакову/пневмотонометрия, периметрия, биомикроскопия и биомикроофтальмоскопия; наружный осмотр глаза с определением формы и размеров глазной щели, положения глаза в орбите; эхография мягких тканей орбиты, эхобиометрия, КТ орбит; патоморфологическое исследование биоптата экстраокулярных мышц и орбитальной клетчатки выполняли по стандартному протоколу; определение носительства генотипов полиморфизма rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* и уровня экспрессии мик-

роРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови проводили методом ПЦР в режиме реального времени.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы внедрены в практику работы Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы (акт внедрения в клиническую практику от 1 августа 2019 г.).

Результаты научных исследований включены в соответствующие разделы основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.59 Офтальмология, в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт внедрения в учебный процесс от 10 июля 2020 г.).

Апробация работы

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол №13 от 14.11.2017 г.).

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и врачей-офтальмологов Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы (протокол № 14 от 30.08.2021 г.).

Основные положения и результаты научного исследования доложены и обсуждены на XVII Всероссийской школе офтальмолога (Москва, 2018 г.), XV Всероссийской научно-практической конференции «Федоровские чтения – 2018» (Москва, 2018 г.), IV Научно-практической конференции молодых ученых по офтальмологии (Москва, 2019 г.), XVI Всероссийской научно-практической конференции «Федоровские чтения – 2019» (Москва, 2019 г.), XI Научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (Москва, 2020 г.), VI Ежегодном Московском конгрессе «Вотчаловские чтения» (Москва, 2020 г.), XII Съезде общества офтальмологов России (Москва, 2020 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ в журналах и сборниках научных трудов, из них 3 – в печатных изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве образования РФ и 2 – в международных базах данных и системах цитирования SCOPUS.

Личный вклад автора. Автором работы проанализирована отечественная и зарубежная научная литература по теме диссертации, обоснована степень разработанности выбранной тематики, сформулированы цель и задачи исследования, определен комплексный методологический подход к их решению, проведен набор клинического материала, обследование, лечение и динамическое наблюдение больных эндокринной офтальмопатией, участие в операциях в качестве ассистента. Самостоятельно проведен анализ и статистическая обработка данных исследования, формирование выводов и положений, выносимых на защиту, и практических рекомендаций. Принимала участие в подготовке научных публикаций по материалам диссертационного исследования, а также в научно-практических конференциях в качестве докладчика.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 3.1.5. Офтальмология (медицинские науки) и области исследования: п. 4 «Изучение влияния консервативной терапии на орган зрения, совершенствование методик».

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 100 страницах печатного текста, состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных клинических исследований и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка используемых сокращений, списка литературы, включающего 152 источника: 25 отечественных и 127 зарубежных. Работа иллюстрирована 29 таблицами, 23 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Понятие об эндокринной офтальмопатии

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) – прогрессирующее аутоиммунное заболевание мягких тканей орбиты, в основе которого лежит иммуномедиаторное воспаление экстраокулярных мышц, орбитальной клетчатки и локальный отек претибиальных тканей [7].

Первые упоминания о глазных проявлениях при патологии щитовидной железы (ЩЖ) относятся к 1835 г. (Graves R.), после чего в литературе закрепился термин «эндокринная офтальмопатия». Начиная с 80-х годов XX столетия в зарубежной литературе чаще используется понятие «орбитопатия Грейвса».

Заболеванию, как правило, подвержены лица трудоспособного возраста. По данным G. V. Bartley и соавт., ЭОП заболевают около 16 женщин и 2,9 мужчин на 100000 популяции ежегодно [38].

Отмечено, что наибольшая частота случаев ЭОП у женщин приходится на возраст от 40 до 44 лет и от 60 до 64 лет, а у мужчин от 45 до 49 лет и от 65 до 69 лет [26, 103, 128, 149].

Известно, что пусковым механизмом развития ЭОП является нарушение функции щитовидной железы, при этом у 7,4% больных отмечают ее гиперфункцию, а в 8% случаев диагностируют гипотиреоз. У 18,5% больных с выраженными клиническими симптомами ЭОП установлено эутиреоидное состояние щитовидной железы [7, 61].

Течение ЭОП непосредственно зависит от гормонального статуса щитовидной железы. Клиническая картина ЭОП в 20–70% случаев развивается одновременно с появлением клинических симптомов основного заболевания, и только в 1/3 случаев диагноз ЭОП устанавливают до появления патологии щитовидной железы. У 3,7–40% больных проявление симптомов эндокринной офтальмопатии наблюдают после диагностирования заболевания щитовидной железы [38, 59, 120].

В патогенезе развития клинических симптомов ЭОП лежат морфологические изменения экстраокулярных мышц и орбитальной клетчатки: клеточная ин-

фильтрация тканей представителями иммунной системы (Т и В-лимфоциты, макрофаги, тучные и плазматические клетки). В последние годы полагают, что морфологическим изменениям предшествует появление провоспалительных цитокинов, фибробластов и гликозаминогликанов (ГАГ), способствующих увеличению содержимого орбиты в объеме с развитием экзофтальма. Исход воспалительного процесса – фиброз тканей орбиты [31, 45].

Понятие «эндокринная офтальмопатия» собирательное и включает в себя несколько клинических форм [7, 14, 148].

По классификации Бровкиной А. Ф. (1983 г.) выделяют клинические формы ЭОП: тиреотоксический псевдоэкзофтальм, при котором «отсутствуют патологические изменения в мягких тканях орбиты» [15]. Отечный экзофтальм (ОЭ) и эндокринная миопатия (ЭМ) – те клинические формы ЭОП, в основе развития которых лежат морфологические изменения в мягких тканях орбиты. Для клиницистов наибольшее значение имеют отечный экзофтальм и эндокринная миопатия, которые приводят к тяжелым последствиям в исходе заболевания и именно они подлежат глюкокортикоидной терапии.

Отечный экзофтальм развивается у 63% больных ЭОП [8]. В зависимости от вовлечения в патологический процесс содержимого орбиты выделяют миогенный, липогенный и смешанный варианты ОЭ.

Для липогенного варианта ОЭ характерно увеличение в объеме орбитального жира без грубого повреждения экстраокулярных мышц. Полагают, что данный вариант ОЭ невосприимчив к консервативной терапии, имеет наиболее благоприятное клиническое течение (доставляя косметический дефект для пациента) [9].

Миогенный вариант ОЭ протекает тяжелее. Увеличенные в объеме прямые экстраокулярные мышцы приводят к венозному застою в орбите с развитием клинической картины субкомпенсированного и декомпенсированного отечного экзофтальма с явлениями оптической нейропатии, осложняющейся вплоть до слепоты [6, 13, 28].

В зарубежной литературе используют понятие активной (подлежащей лечению) и неактивной офтальмопатии Грейвса (шкала CAS) [91].

Доказано, что период активной клеточной инфильтрации при отечном экзофтальме составляет от 12 до 18 мес. с уже имеющейся воспалительной инфильтрацией орбитальной клетчатки и ЭОМ [7, 12, 28].

Поражение глаз, как правило, билатеральное (85–95% случаев), но у 5–15% больных встречается асимметрия выраженности клинических симптомов [6, 7].

До недавнего времени эндокринную миопатию рассматривали как исход активной стадии отечного экзофтальма, возникающий через 6–8 месяцев от начала заболевания, с фиброзными изменениями в ЭОМ [7, 13]. В исследовании, посвященном изучению клинического течения эндокринной миопатии, авторы доказали существование самостоятельной, первичной формы ЭОП с локальным воспалением и клеточной инфильтрацией экстраокулярных мышц в сроки от 3 до 4 месяцев [10].

На характер клинического течения эндокринной офтальмопатии оказывают влияние некоторые факторы. Установлено утяжеление патологического процесса в мягких тканях орбиты после лечения дисфункции щитовидной железы. В первую очередь это относится к облучению радиоактивным йодом (I-131). Следует отметить, что частота таких случаев ежегодно нарастает (до 15–33% случаев) [121, 134, 145].

Доказано отрицательное влияние курения на течение заболевания, которое не только повышает риск развития, но и способствует появлению рецидива клинической картины ЭОП в 7-8 раз, усугубляя ее течение [105, 148]. Предполагают, что никотин оказывает влияние на экспрессию генов, участвующих в развитии заболевания, которое обратимо с его прекращением [83].

Таким образом, сопоставление клинических симптомов, длительности анамнеза заболевания у больных эндокринной офтальмопатией, позволяет определить наличие той или иной клинической формы ЭОП, что предопределяет выбор метода лечения каждой из них.

1.2. Глюкокортикоидная терапия эндокринной офтальмопатии и история ее развития

Первые сведения о начале применения глюкокортикоидов (ГК) в клинической практике относятся к 1948 году, когда впервые ревматологи ввели кортизон больному ревматоидным артритом, открыв тем самым терапевтические эффекты стероидов [97].

Отечественный опыт применения глюкокортикоидов насчитывает около 70 лет. Еще в 70-х гг. XX века были опубликованы данные о применении дексаметазона в лечении отечного экзофтальма [3], а в 1985 г. описан клинический случай применения преднизолона в дозировке 150 мг/сутки больной декомпенсированным отечным экзофтальмом с повреждением роговицы и развитием оптической нейропатии [18].

С 1987 г. в зарубежной литературе появились работы, показывающие, что импульсная терапия метилпреднизолоном может быть эффективным вариантом многокомпонентного воздействия при офтальмопатии Грейвса [95].

Свойства ГК таковы, что их можно использовать для подавления всех стадий воспаления в орбитальных тканях, предотвращая прогрессирование заболевания. Глюкокортикоиды в офтальмологии применяют парентерально, перорально и в виде ретробульбарных инъекций [27, 114, 151].

Принято считать, что прямыми показаниями к применению препаратов данной группы являются декомпенсированная и субкомпенсированная формы отечного экзофтальма, эндокринная миопатия при длительности заболевания до 6 месяцев [8, 10, 111].

Несмотря на различные методики введения глюкокортикоидов, эффективность их применения неодинакова. Так, системный прием ГК определяет до 60% положительных ответов на лечение, ретробульбарными инъекциями ГК – 40% [34, 25, 36, 151]. А по данным А. Pinchera et al., положительный эффект от локального введения стероидов наблюдается у 25% больных [108]. Такие различия в показателях, возможно, обусловлены длительным анамнезом заболевания и уже имеющимися элементами фибротизации в экстраокулярных мышцах. Целесооб-

разность ретробульбарных инъекций глюкокортикоидов доказана у больных, страдающих эндокринной миопатией при длительности анамнеза заболевания до 6 месяцев [10].

Наряду с этими имеются сведения, указывающие на недостаточную эффективность перорального приема преднизолона при активных формах эндокринной офтальмопатии. Положительный эффект от лечения отмечен у 33–63% больных в активной стадии заболевания [33, 41, 88, 101].

На протяжении последних десятилетий внутривенное введение глюкокортикоидов у больных активной стадией заболевания остается терапией выбора ввиду более высокой частоты ответа и меньшего количества побочных эффектов [69, 87, 90, 150]. Частота положительного "ответа" на внутривенные инъекции глюкокортикоидов составляет 70–80%, а 20–30% всех больных не реагируют на данный вид лечения, составляя так называемую группу стероидорезистентных форм ЭОМ [72, 151].

Предпринимались попытки объяснить критерии эффективности глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией. Полагали, что чем активнее заболевание, короче продолжительность клинических симптомов, раньше начата глюкокортикоидная терапия (в течение 13 месяцев от появления признаков заболевания) при полной компенсации показателей гормонов щитовидной железы, тем она считается более эффективной [7, 102, 143].

Высказано предположение о влиянии характера повреждения мягкотканного содержимого орбиты, а также пола и возраста больного на глюкокортикоидный "ответ". Так, А. Ф. Бровкина показала, что больные с миогенным вариантом отечного экзофтальма более чувствительны к проводимой глюкокортикоидной терапии [6], а больные с липогенным вариантом составляют "нечувствительную" к ГК группу ЭОП [9].

Несмотря на многолетний опыт применения различных методик глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП, не существует единых критериев эффективности данного лечения.

В клинической практике на формирование стероидорезистентности оказывает влияние длительность анамнеза заболевания (переход стадии воспаления в фиброз), дозы препараты и способ его введения.

1.3. Глюкокортикоидный рецептор и его роль в формировании терапевтического ответа на глюкокортикоидную терапию

С момента изучения генома человека начали обращать внимание на атипичные фармакологические ответы (до 50%) [20]. Их связывали с неэффективностью лекарственных средств или появлением нежелательных (побочных) лекарственных реакций, обусловленных генетическими особенностями пациентов [22, 52].

Полагают, что в подобных ответах принимают участие «полиморфные участки генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике лекарственных средств, которые получили название полиморфных маркеров или аллельных вариантов» [2, 144].

Принято считать, что на молекулярном уровне свое действие на клетки-мишени глюкокортикоиды осуществляют посредством регуляции транскрипции генов. Это связано с взаимодействием глюкокортикоидов со специфическими рецепторами, представляющими собой белковый комплекс и присутствующими практически во всех клетках [51, 55, 106].

История открытия рецептора глюкокортикоидов (pГК) насчитывает более 40 лет [92]. Свое название глюкокортикоидный рецептор получил благодаря обнаружению внутриклеточного белка, обладающего высоким сродством и специфичностью к кортизолу и дексаметазону по химическому составу [39, 40].

Первые упоминания о транспортировке pГК из цитоплазмы клетки в ядро и связывание его с ДНК относятся к 1970 гг. [60, 113, 116].

Экзогенные ГК, проникая чрез клеточную мембрану, связываются с рецепторами глюкокортикоидов в цитоплазме клетки. Образовавшийся комплекс "глюкокортикоид-рецептор" транспортируется в ядро клетки, где взаимодействует со специфическими глюкокортикоид-отвечающими участками ДНК, активируя или подавляя процесс транскрипции. Это приводит к образованию матричного (ин-

формационного) РНК, синтезу различных регуляторных белков и ферментов, опосредующих стероидный ответ [92, 98].

Учитывая молекулярные механизмы формирования стероидного ответа, установить причины развития резистентности к глюкокортикоидам представляется сложным. Предполагают влияние роли полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора, который может препятствовать формированию комплекса "глюкокортикоид–рецептор", снижать транскрипцию и угнетать экспрессию генов, кодирующих белки, ответственные за клеточный ответ на глюкокортикоиды [32, 42, 58, 81].

Ген глюкокортикоидного рецептора (*NR3C1*) находится на длинном плече 5 хромосомы и включает более 150 тысяч пар оснований, представлен 9 экзонами, которые кодируют последовательность из 777 аминокислот [138].

Известны около 2571 полиморфных вариантов гена рГК *NR3C1*, но пока изучены лишь некоторые из них: N363S (rs6195), ВСП (rs41423247, ER/23ЕК (rs6189/rs6190), TthIII (rs10052957). Клинический интерес представляют полиморфизмы, которые замедляют взаимодействие гормона с рецептором, определяют его нестабильность и снижают активность [23].

Полиморфизм гена обусловлен изменением аминокислотной последовательности кодируемого рецептора по типу «замены единичного нуклеотида» (single nucleotide polymorphism, SNP) [85, 124].

Частота встречаемости полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* невысока. Так, например, вариант N363S отмечен примерно у 4% населения, а ER22/23ЕК лишь у 2%. Частота встречаемости полиморфизма рГК может зависеть от этнической принадлежности. Так, в одной популяции частота встречаемости полиморфизма N363S – 7,4% [49], а в двух других может вообще не наблюдаться [57, 63]. Подобное распределение полиморфизма объясняют экологическими, социальными факторами и неоднородностью популяции [47].

В отечественной и зарубежной литературе недостаточно данных о роли полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* на резистентность к стероидной терапии у пациентов эндокринной офтальмопатией.

В настоящее время (на август 2021 г.) просмотрены работы по данной тематике: за период с 2012 по 2021 гг. выявлены лишь две публикации, которые посвящены анализу влияния полиморфизма N363S (rs6195), BCII (rs41423247, ER/23EK (rs6189/rs6190) гена *NR3C1* на чувствительность к глюкокортикоидной терапии у больных орбитопатией Грейвса (ЭОП) [130, 140].

Следует подчеркнуть, что в зарубежном исследовании авторы не обнаружили полиморфные варианты гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1*, которые были бы в значительной степени связаны с терапевтическим ответом. Причину полученных результатов авторы объясняют малой когортой пациентов (40 человек), позволяющих обнаружить достоверное значение для генетического исследования, так как частота полиморфизма гена *NR3C1* очень низка [140].

В 2019 г. опубликована работа, освещающая взаимосвязь полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора с ответом на ГКТ. Из четырех исследуемых полиморфных вариантов гена (rs56149945, rs41423247, rs6189, rs6190), авторы определили в качестве причины формирования истинной стероидорезистентности полиморфный вариант 39739G>A/rs6189 по гетерозиготному типу [24]. Отдавая должное первенству публикации, следует все же подчеркнуть выводы самих авторов: «...встречаемость некоторых полиморфизмов соответствовала статистической значимости на уровне тенденции...», что связано с небольшим количеством пациентов. Не исключено, что это связано и с особенностями выборки больных: эндокринная офтальмопатия – термин обобщающий, включающий в себя 4 клинические формы, протекающие с различным набором признаков. Не последнюю роль играет и длительность анамнеза заболевания.

Как следует из данных литературы, роль полиморфных вариантов гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1* на формирование резистентности к глюкокортикоидам изучена при других аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, бронхиальная астма, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, идиопатический нефротический синдром) (Таблица 1).

Таблица 1.

Влияние полиморфных вариантов гена рецептора *NR3C1* на глюкокортикоидный ответ при аутоиммунных заболеваниях

	<i>Ревматоидный артрит</i>	<i>Бронхиальная астма</i>	<i>Болезнь Крона и неспецифический язвенный колит</i>	<i>Идиопатический нефротический синдром</i>
ER/23ЕК (rs6189/rs6190)	↓	–	↓	↓
N363 (rs6195)	↑		↑	↑
BCII (rs41423247)	↑	↓		↑
rs6196			↓	
rs7701443			↓	
rs860457			↓	
TthIII		–		↓
9β (rs6198)	↓			↓

Примечание. ↓ – сниженная чувствительность к глюкокортикоидам; ↑ – повышенная чувствительность к глюкокортикоидам; "–" – отсутствует ассоциация с ответом на глюкокортикоиды

Как следует из Таблицы 1, полиморфные варианты гена *NR3C1* N363S (rs6195), BCII (rs41423247) ассоциированы с повышенной чувствительностью к ГК, а ER/23ЕК (rs6189/rs6190), TthIII (rs10052957), 9β (rs6198), rs6196, rs7701443, rs860457 связаны с резистентностью к ГК, подавляя экспрессию гена *NR3C1*.

В качестве причины формирования резистентности рассматривают не только наличие отдельного полиморфного варианта гена глюкокортикоидного рецептора *NR3C1*, но и отдельный генотип каждого индивидуума.

Так, носители аллеля BCII-G, N363S-G связаны с высокими показателями терапевтического ответа на глюкокортикоидную терапию, а аллель 9β-G. ER22/23ЕК-A/As пониженной восприимчивостью, соответственно [19, 56, 68, 73, 109, 137, 138].

1.4. Цитохром P450, его полиморфизм в формировании глюкокортикоидного ответа

Допустимым объяснением неэффективности проводимой глюкокортикоидной терапии могут быть изменения, связанные с ролью ферментов системы цитохрома P450, как катализатора метаболизма стероидов.

Представителями «системы цитохрома P450» являются ферменты, локализуемые в мембране эндоплазматического ретикулула клеток, главным образом, желудочно-кишечного тракта, печени, почках, легких центральной нервной системы, и принимающие участие в реакции окисления I фазы биотрансформации лекарственного вещества, в результате которой синтезируются водорастворимые соединения посредством внедрения молекулы кислорода в молекулу субстрата [48].

К настоящему времени изучено более 1000 ферментов системы цитохрома P450, однако выявлено активное участие в биотрансформации лишь 9 лекарств.

Предполагают, что в процессе инактивации лекарственного вещества ведущее место занимает ген цитохрома P450, полиморфизм которого определяет ферментативную активность белкового продукта этого гена [1, 21, 25]. Полиморфизм гена также обусловлен заменой одного нуклеотида в цепочке ДНК по типу SNP (single nucleotide polymorphism).

Гены, которые кодируют ферменты, участвующие в биотрансформации лекарственных средств, отличаются большим количеством полиморфизма, чем обусловлены различия в фармакокинетике, фармакодинамике и эффективности применяемых препаратов, соответственно [110, 142].

В геноме человека насчитывают более 100 генов системы цитохрома P450, при этом 48 из них относятся к группе псевдогенов [99], а доля измененных генов может варьировать от 10 до 30% в популяции.

Считают, что полиморфизм генов ферментов оказывает влияние на эффективность терапии «не только за счет изменения процессов всасывания и экскреции препаратов, но также и за счет структуры и функции рецепторов, на которые воздействуют лекарственные вещества». Полиморфизм генов ферментов цитохрома P450 может быть причиной индивидуальных различий в скорости превра-

щений лекарственных препаратов. Определенный набор полиморфизма генов изоферментов у индивидуума определяет способность к повышенной или пониженной биотрансформации эндогенного вещества. Наличие однонуклеотидного полиморфизма в гене, который кодирует определенный фермент, может привести к выработке ферментов с измененной активностью, что, в свою очередь, изменяет фармакокинетику лекарственных препаратов, метаболизируемых этим изоферментом [125]. При этом носитель определенного аллельного варианта гена может по-разному реагировать на терапевтические дозы лекарственного средства [44].

Доказано, что вероятность развития побочных реакций имеется у больных с замедленными метаболическими реакциями, но и при сверхбыстром метаболизме концентрация лекарственного вещества в плазме может не достигать терапевтической дозы. Это приводит к формированию резистентности [25, 86].

Наиболее важным механизмом индукции ферментов цитохрома P450 является взаимодействие лекарственного вещества с конкретными внутриклеточными рецепторами-белками регуляторами транскрипции гена. Этот комплекс, проникая в ядро клетки, действует на специфическую область гена, что приводит к увеличению экспрессии гена, кодирующего систему цитохрома [30, 132]. Исходя из этого, есть основание полагать, что степень активности фермента цитохрома P450 напрямую зависит от взаимодействия глюкокортикоидного рецептора с гормоном.

Наибольший интерес представляют ферменты *CYP3A4* и *CYP3A5*, участвующие в метаболизме большого числа лекарственных препаратов, в том числе, глюкокортикоидов [77, 152].

В литературе недостаточно данных об участии полиморфизма генов цитохрома P450 (*CYP3A4* и *CYP3A5*) и их генотипов в метаболизме глюкокортикоидов. Имеются сведения, указывающие на возможную ассоциацию между полиморфизмом ферментов системы цитохрома P450 и риском развития таких аутоиммунных заболеваний, как бронхиальная астма, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, нефротический синдром [65, 93, 131].

Однако сведений, доказывающих участие полиморфизма гена ферментов цитохрома P450 в глюкокортикоидном ответе при ЭОП, недостаточно, что и представляет интерес и перспективы в дальнейшем изучении.

1.5. МикроРНК и эндокринная офтальмопатия

В последнее время в литературе появляются сведения, указывающие на роль эпигенетических механизмов в развитии ряда аутоиммунных заболеваний, в том числе и ЭОП. Речь идет о микроРНК, которые рассматривают как потенциальные биомаркеры развития ЭОП и отрицательного ответа на глюкокортикоидную терапию у этой группы больных [115, 130].

МикроРНК (miRNA) представляют собой класс одноцепочечных молекул РНК, состоящих в среднем из 22 нуклеотидов [37].

Считают, что микроРНК задействованы с сложных механизмах патогенеза и его контроля при различных заболеваниях; влияя на степень экспрессии генов, они участвуют в процессах клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе клеток [53]. Они контролируют экспрессию генов посредством несовершенного спаривания с мРНК-мишенями белков-кодирующих генов, вызывая прямую деградацию мРНК или трансляционную репрессию [46].

В последние годы описана роль микроРНК у больных с воспалительными аутоиммунными заболеваниями [96, 129, 147].

В тяжести течения ЭОП наибольшую роль, скорее всего, играют микроРНК-21, микроРНК-27а, микроРНК-27b, микроРНК-146а, микроРНК-155 [66, 71, 133]. И, тем не менее, их роль в патогенезе ЭОП полностью не определена.

Показана значимость микроРНК в регуляции адипогенеза [66, 133]. Авторы исследовали микроРНК-27а и микроРНК-27b в адипогенезе ретробульбарной клетчатки у больных ЭОП *in vitro* и контрольной группы. В результате было получено достоверное снижение уровней экспрессии семейства микроРНК (микроРНК-27а и микроРНК-27b) в орбитальной клетчатке у больных ЭОП по сравнению со здоровыми лицами.

Что касается микроРНК-21, то снижение уровня ее экспрессии сопровождалось подавлением пролиферации и дифференцировки орбитальных фибробластов и усилением апоптоза. Повышенная экспрессия их, наоборот, усиливала пролиферацию и дифференцировку орбитальных фибробластов, блокируя их гибель [133].

Есть основание полагать, что увеличение количества фибробластов в орбите приводит к следующему этапу морфологических изменений – формированию преадипоцитов с последующим исходом их в зрелые адипоциты. Таким образом, осуществляется механизм формирования липогенного варианта ОЭ, что соответствует опубликованным ранее данным об увеличении объема орбитальной клетчатки [17].

Участие в адипогенезе и избыточном образовании фибробластов принимают и другие микроРНК. Речь идет о микроРНК-146а и микроРНК-155, которые, как полагают, отвечают за пролиферацию миофибробластов [67, 71, 146]. Однако не все так однозначно.

МикроРНК-146а принимают участие в патогенезе ЭОП, оказывая противовоспалительный и антифиброзный эффекты [67]. Другое исследование продемонстрировало повышенную экспрессию микроРНК-146а, что способствует воспалению и прогрессированию этого заболевания, увеличивая митоз фибробластов [141].

И микроРНК-146а, и микроРНК-155 характеризуются противоположным влиянием на воспалительные реакции, осуществляемые Т-лимфоцитами и, по видимому, имеют несколько мишеней в патогенезе ЭОП [146].

Наряду с изучением микроРНК в патогенезе заболевания оценена роль циркулирующей в плазме крови микроРНК в прогнозировании и эффективности ГКТ у больных орбитопатией Грейвса. Авторы исследования показали, что пониженный уровень экспрессии микроРНК-224-5р был обнаружен у больных, нечувствительных к глюкокортикоидной терапии [115].

Таким образом, есть основание полагать, что полученные данные литературы, подтверждающие экспрессию микроРНК, могут быть использованы в каче-

стве маркеров чувствительности при прогнозировании эффективности глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2. 1. Общая характеристика больных

Клиническое исследование проводили на базе кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, консультативно-диагностического отделения, 64 офтальмологического отделения Филиала №1 ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы «Офтальмологическая клиника» (далее Московский городской офтальмологический центр ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы) в период с сентября 2017 по сентябрь 2019 гг.

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-315-90038.

Обследовано 75 больных эндокринной офтальмопатией. Распределение по клиническим формам и возрастная характеристика представлено в Таблице 2.

В основном преобладали женщины – 77,3%, мужчин – 22,7%.

Средний возраст больных – $52,65 \pm 12,6$ года (27–84 года).

Таблица 2.

Общая характеристика больных разными клиническими формами эндокринной офтальмопатии

Клиническая форма		N больных	Пол		Состояние щитовидной железы		
			ж	м	Гипертиреоз (n больных)	Гипотиреоз (n больных)	Эутиреоз (n больных)
ОЭ	миогенный вариант	37	31	6	32	3	2
	липогенный вариант	12	12	–	11	1	–
	смешанный вариант	9	6	3	6	2	1
Эндокринная миопатия		17	9	8	11	4	2

У 60 (80%) больных наблюдали гиперфункцию щитовидной железы, у 10 (13,3%) – гипотиреоз, эутиреоидное состояние – у 5 больных (6,7%).

Диагноз "отечный экзофтальм, миогенный вариант" диагностирован у 37 больных (74 орбиты) – 49,3%, липогенный вариант ОЭ у 12 больных (24 орбиты) – 16%, смешанный вариант ОЭ выявлен у 9 пациентов (18 орбит) – 12%.

У 17 больных (22,6%) установлен диагноз эндокринная миопатия, из них 8 случаев (47%) в активной стадии патологического процесса, 9 (53%) – в стадии фибротизации.

По клинической картине и длительности анамнеза выделена активная стадия заболевания у 66 больных (132 орбиты) – 88,0%, стадия фиброза – у 9 больных (18 орбит) – 12,0%.

Степень компенсации патологического процесса у больных отечным экзофтальмом и эндокринной миопатией представлены в Таблице 3.

Таблица 3.

Степень компенсации патологического процесса у больных отечным экзофтальмом и эндокринной миопатией

<i>Клиническая форма</i>	<i>Степень активности процесса</i>	<i>Количество больных (n орбит)</i>
Отечный экзофтальм	компенсация	12 (24)
	субкомпенсация	37 (74)
	декомпенсация	9 (18)
Эндокринная миопатия	активная	8 (16)
	фиброз	9 (18)

Критериями включения в научное исследование явились пациенты, имеющие диагноз эндокринной офтальмопатии независимо от клинического течения и длительности заболевания.

Критериями исключения из научного исследования: выраженная соматическая патология (патология печени, почек, сердечно-сосудистой, нервной системы); наличие других аутоиммунных заболеваний (например, бронхиальная астма, ревматоидный артрит, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит); наличие противопоказаний к применению глюкокортикоидов (регламентированы в утвержденных Минздравом России инструкциях по медицинскому применению): острые и хронические бактериальные или вирусные заболевания (в настоящее время или недавно перенесенные, включая недавний контакт с больными) – простой и опоясывающий герпес, ветряная оспа, корь, амебиаз,

стронгилоидоз; системный микоз, ВИЧ или СПИД, активный и латентный туберкулез, кишечный анастомоз (в ближайшем анамнезе), острая или латентная пептическая язва, эзофагит, гастрит, язвенный колит с угрозой перфорации или абсцедирования, дивертикулит, ожирение III-IV степени, сахарный диабет, введение препарата интратекально, наличие тромбоэмболических осложнений или предрасположенность к ним, одновременное применение живых и ослабленных вакцин иммуносупрессивными дозами препарата, тяжелый остеопороз, психические расстройства, судорожный синдром, полиомиелит (кроме бульбарно-энцефалических форм), миастения gravis, беременность, период грудного вскармливания, повышенная чувствительность к метилпреднизолону или компонентам препарата, болезнь Иценко-Кушинга, стойкая артериальная гипертония, острый и подострый инфаркт миокарда в анамнезе, хроническая сердечная недостаточность, тяжелое нарушение функции печени и/или почек, вторичная надпочечниковая недостаточность.

Медикаментозную глюкокортикоидную терапию проводили в условиях 64 офтальмологического отделения Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы 52 больным (Таблица 4). У 23 больных ГКТ проведена по месту жительства, эффективность которой оценена ретроспективно. Лечение и наблюдение за больными проводил лично автор работы.

Таблица 4.

Использованные методики глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП

<i>Клиническая форма</i>		<i>Пульс-терапия (n больных)</i>	<i>Ретробульбарные инъекции (n больных)</i>	<i>Комбинированная ГКТ (n больных)</i>
ОЭ	миогенный и смешанный вариант	46	10	3
	липогенный вариант	12	–	–
Эндокринная миопатия		4	13	4

Подвергнуто хирургическому лечению: декомпрессия орбиты с эвакуацией части орбитальной клетчатки – 10 больных, реабилитационные операции на фиброзно-измененной мышце у 8 больных эндокринной миопатией (Таблица 5).

Хирургическое лечение больных ЭОП

<i>Клиническая форма</i>		<i>Декомпрессия орбиты (n больных)</i>	<i>Ослабление фиброзно- измененной мышцы (n больных)</i>
ОЭ	миогенный и смешанный вариант	субкомпенсация	–
		декомпенсация	2
	липогенный вариант		8
Эндокринная миопатия		–	8

Все операции проведены на базе 64 офтальмологического отделения Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГKB им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы. Автор исследования принимала участие в каждой операции в качестве ассистента хирурга.

2.2. Методики исследования больных

Методика исследования больного эндокринной офтальмопатией включала сбор жалоб, анамнеза заболевания и анамнеза жизни с учетом состояния функции щитовидной железы.

Всем больным проводили классическое офтальмологического обследование: визометрию, тонометрию по Маклакову/пневмотонометрию, периметрию, биомикроскопию и биомикроофтальмоскопию, выполненные по стандартной методике.

Использованы клинические методы обследования: наружный осмотр глаза с определением формы и размеров глазной щели (в мм по вертикальному меридиану), положения глаза в орбите (выстояние его определяли по экзофтальмометру Гертеля).

Ширину глазной щели определяли в положении врача и больного сидя, напротив друг друга. При фиксации взгляда больного прямо на переносице врача при помощи сантиметровой линейки измеряли расстояние (в мм) между передним реберным краем верхнего и нижнего века в проекции зрачка.

Экзофтальмометрия по Гертелю: в положении больного и врача сидя, строго друг напротив друга, на середину наружного края костной орбиты устанавли-

вали упор экзофтальмометра так, чтобы положение прибора находилось параллельно аксиальной оси. В момент исследования взгляд пациента был фиксирован на переносице врача. В зеркалах экзофтальмометра, расположенных справа и слева, соответственно, при монокулярном зрении фиксировали совпадение профиля роговицы и цифр линейки, что соответствовало выстоянию глаза относительно наружной стенки орбиты.

Учитывая, что эндокринная офтальмопатия – процесс, как правило, билатеральный, мы определяли не степень экзофтальма, а степень выстояния каждого глаза по отношению к наружной стенке его орбиты. Исследование проводилось одним врачом с обязательной фиксацией расстояния между ножками экзофтальмометра в момент первого исследования.

Объем движений глаза по вертикали и горизонтали определяли следующим образом: больной, сидя в сидячем положении, напротив врача, следит за перемещением какого-либо объекта (шариковая ручка) в руках исследователя в положении вверх, вниз, вправо, влево. При свободных движениях глаз при взгляде пациента кнаружи лимб доходил до наружной спайки век, при взгляде кнутри – до слезного мясца, при взгляде вверх роговица заходила за край верхнего века приблизительно на 2 мм. Ограничение подвижности глаз в ту или иную сторону соответствовало поврежденной мышце, определяющей характер движений.

Степень девиации глаза определяли методом Гиршберга: в положении больного сидя напротив врача при помощи офтальмоскопа направляли пучок света в глаза больного поочередно, прося его при этом смотреть на офтальмоскоп. При правильном положении глаза отраженный пучок света совпадал с центром зрачка, а в косящем смещался в определенную сторону.

Репозиция глаза, степень смещения его по направлению к вершине орбиты определяли субъективно, смещая глаз кзади по зрительной оси, установив I большой палец кисти на нижнее веко, II и III пальцы на верхнее веко вне роговицы.

2.2.1. Визуализирующие методы исследования

Эхографию глаза и мягких тканей орбит проводили на базе отделения функциональной диагностики Московского городского офтальмологического

центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы (заведующий отделением Добросердов А. В.) на аппарате ультразвуковой эхографии глаз Aviso 1885 (Франция, 2015 г.) при личном участии автора работы.

Оценивали форму глаза, форму и плотность экстраокулярных мышц вертикального и горизонтального действия с их биометрией в зоне брюшка. При помощи построения "кривой" гистограммы оценивали плотность всех мышц.

Оценку ретробульбарной клетчатки проводили по степени ее плотности.

Компьютерная томография орбит была выполнена на базе других лечебно-диагностических учреждений в 2 проекциях (аксиальной и фронтальной) с шагом среза 1–2 мм и толщиной среза в 1 мм. Оценку томограмм проводили с учетом клинической картины в каждом конкретном случае.

2.2.2. Патоморфологическое исследование биоптата

Патоморфологическое исследование биоптата экстраокулярных мышц и орбитальной клетчатки, полученных во время восстановительных операций на экстраокулярных мышцах и декомпрессии орбиты, были проведены в патоморфологической лаборатории (заведующая отделением, к. м. н. Нечеснюк С. Ю.) Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы.

Исследуемый материал фиксировали в 10 растворе забуференного формалина. С целью обезвоживания и просветления образцов применяли раствор для гистологической обработки на основе изопропанола «Isorger» по стандартному протоколу, заливали в «гистомикс» и готовили серийные срезы толщиной 4 мм.

Для окраски препаратов использовали стандартные методики окраски гематоксилином и эозином, дополнительно для более четкой визуализации мышечного и соединительно-тканного компонента окрашивание пикрофуксином по Ван-Гизону и Маллори.

2.2.3. Молекулярно-генетические методы исследования

Молекулярно-генетическое тестирование выполняли сотрудники отдела молекулярной медицины Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (ди-

ректор - ведущий научный сотрудник отдела молекулярной медицины, д. б. н. Гришина Е. А.).

Забор венозной крови для определения носительства полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5*, а также уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 одноразовым стерильным инструментарием в условиях стационара, центрифугирование крови для получения плазмы проводил лично автор работы.

А. Определение носительства генотипов полиморфизма rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5*

Носительство генотипов полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* определяли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР в реальном времени) с использованием коммерческих наборов «TaqMan®SNP Genotyping Assays» от Applied Biosystems (Foster City, California, USA) и «Q®ДНК-полимераза HF» компании New England Biolabs (Ипсвич, Массачусетс, США).

Программа включала предварительную денатурацию при 95 °С, которая длилась 2 минуты, затем 39 циклов денатурации по 15 секунд при 95 °С, затем отжиг при 56 °С в течение 1 минуты.

Полиморфизмы генотипов обнаруживали с использованием Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Б. Выделение тотальной РНК плазмы крови

Для проведения исследования кровь пациентов набирали в стерильные пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), после чего переворачивали несколько раз для соединения крови с антикоагулянтом.

Пробирку центрифугировали в течение 10 минут (ускорение 2000g) для получения плазмы, впоследствии образовавшийся супернатант перемещали в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2 мл и хранили в холодильнике при температуре -80 °С до использования.

Для выделения суммарной РНК, включая микроРНК, использовали реагент Qiazol и набора miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с протоколом производителей с небольшими модификациями. Используемый реагент добавляли к 500 мкл плазмы в соотношении 2:1, после чего в пробирку добавляли хлороформа. Для дальнейшего центрифугирования с целью разделения фаз, водную фазу переносили в новую пробирку, добавляя 1,5 объема 100% этанола. Раствор с РНК загружали в колонку miRNeasy, способствуя его дальнейшей отмывке в соответствии с инструкциями производителя. Объем элюции, полученный в результате вышеуказанных манипуляций, составлял 15 мкл.

Для оценки концентрации и чистоты полученной РНК использовали спектрофотометр для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Нью-Йорк, США). Выделение РНК повторяли для каждого образца до получения достаточного ее количества для проведения последующих этапов.

В. Количественная оценка уровня экспрессии микроРНК

Первым этапом количественной оценки уровня экспрессии микроРНК проводили обратную транскрипцию РНК с применением набора MiScript II RT Kit (Qiagen) в соответствии с рекомендованным протоколом. 300 ng суммарной РНК, полученной из каждого образца, добавляли в реакционную смесь (3,8 мкл 5x miScript HiFlex Buffer, 2 мкл 10X miScript Nucleics Mix, 1 мкл miScript Reverse Transcriptase Mix, 2,2 мкл экзогенного контроля cel-miR-39-3p и свободная от РНКаз вода до 20 мкл) для получения кДНК, после чего инкубировали 60 минут при 37 °C с увеличением температуры до 95°C на 5 минут для инактивации транскриптазы.

Для каждой анализируемой микроРНК и экзогенного контроля cel-miR-39-3p проводили ПЦР в режиме реального времени в трех повторностях с использованием набора MiScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen), пресинтезированного праймера miScript Primer Assay (Qiagen) для контроля и подобранных в лаборатории праймеров для микроРНК (miR-146a: 5' - TGAGAACTGAATTCATGGGTAAA - 3'; miR-155: 5' TAATGCTAATCGTGATAGGGGTAAAA-3') объемом реакционной смеси

12 мкл (2 мкл кДНК, 5 мкл 2x Quanti Tect SYBR Green PCR Master Mix, 1 мкл 10x miScript Universal Primer, 1 мкл 10x miScript Primer Assay к исследуемым микроРНК, свободная от РНКаз вода до 12 мкл).

ПЦР в реальном времени ставилась на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) по разработанной производителем программе: для активации Hot Star Taq DNA Polymerase - 15 минут при 95 °С и 40 трехступенчатых циклов: 94 °С – 15 сек., 55 °С – 30 сек., 70 °С – 30 сек.

Экспрессия микроРНК была нормализована относительно экзогенного контроля cel-miR-39-3p и рассчитывалась с использованием метода 2- $\Delta\Delta C_t$.

2.3. Методики лечения больных

Медикаментозное и хирургическое лечение больных проводили в условиях 64 офтальмологического отделения Московского городского офтальмологического центра ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ г. Москвы.

2.3.1. Медикаментозная терапия

Патогенетическое медикаментозное лечение включало глюкокортикоидную терапию в виде пульс-терапии, ретробульбарных инъекций, перорального приема и комбинированным способом.

Глюкокортикоидную терапию проводили больным после заключения терапевта, гастроэнтеролога и эндокринолога об отсутствии противопоказаний.

Пульс-терапию проводили в положении больного лежа, под контролем врача, в течение 45–50 минут по схеме:

- 1) 1-я инъекция 3 дня подряд 1000 мг метилпреднизолона внутривенно капельно медленно;
- 2) 2-я, 3-я, 4-я недели – 500 мг метилпреднизолона;
- 3) 5-я, 6-я, 7-я недели – по 250 мг с интервалом в 10–12 дней;
- 4) 8-я, 9-я, 10-я – 125 мг с интервалом в 10–12 дней.

Метилпреднизолон разводили в 250 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Суммарная доза метилпреднизолона на курс терапии составила 5625 мг.

В промежутках между инъекциями по показаниям назначали поддерживающие дозы преднизолона per os в расчете 1 мг/кг больным в стадии суб- и декомпенсации процесса. Дозу преднизолона уменьшали постепенно на 5 мг еженедельно, последние 5–7 дней – по 2,5 мг [7].

Ретробульбарные инъекции глюкокортикоидов выполняли в условиях процедурного кабинета с соблюдением правил асептики иглой для внутримышечных инъекций. Положение больного сидя, при взгляде глазом вверх и кнутри. Кожу в наружной трети нижнего века обрабатывали салфеткой, пропитанной спиртовым раствором антисептика. После пальпации ниже-наружного края костной орбиты, отступя на 1 см медиально от наружной спайки век, производили прокол кожи иглой на глубину 3,5 см. Доза вводимого лекарственного вещества – 1,0 мл. Раствор глюкокортикоида вводили медленно. После вывода иглы в месте инъекции создавали компрессию на 3–5 минут стерильным ватным шариком.

2.3.2. Хирургическое лечение

Хирургическое лечение больных эндокринной офтальмопатии включало декомпрессию орбиты с целью эвакуации планируемой части орбитальной клетчатки и реабилитационные операции по поводу косоглазия у больных с фиброзно-измененными мышцами.

Внутреннюю трансконъюнктивальную декомпрессию орбиты выполняли под эндотрахеальным наркозом. Разрез бульбарной конъюнктивы проводили в наружной и внутренней половине в 4 мм кверху от нижнего конъюнктивального свода. Конъюнктиву отсепаровывали тупым путем. При вставлении в рану орбитальной клетчатки обращали внимание на ее структуру и цвет. Орбитальную клетчатку извлекали отдельными порциями из наружного хирургического пространства объемом 6–7 мм³. При обнажении нижней, внутренней и наружной прямых мышц обращали внимание на их окраску, величину и структуру. После гемостаза в наружную 1/3 наружного хирургического пространства засыпали порошок антибиотика. На конъюнктиву накладывали непрерывный шов 7-00. Провизорные швы на веки 6-00 в проекции наружного и внутреннего лимба. В конце операции определяли положение и диа-

метр зрачка, положение глаза в орбите. После операции орбитальную клетчатку отправляли на патоморфологическое исследование.

Операции на экстраокулярных мышцах выполняли под местной анестезией для возможной оценки положения глаза интраоперационно. С целью восстановления бинокулярного зрения применяли операции, ослабляющие (рецессия) действие пораженной прямой мышцы. Ориентиром для предварительного определения степени рецессии наиболее пораженной мышцы. Допустимым считалось перемещение мышцы кзади на 3–4 мм. При рецессии разрез конъюнктивы осуществляли соответственно зоне проекции сухожилия наиболее пораженной мышцы в 3 мм от лимба. Тупым путем выделяли сухожилие мышцы и фиксировали ее с помощью крючка, оценивая ее цвет и структуру. Мышцу прошивали петельчатым швом 5-00 в 1–2 мм от места ее прикрепления к склере и пересекали. В зависимости от исходного угла косоглазия и рассчитанной степени рецессии на склере наносили метки кзади от места прикрепления. В соответствии с метками мышцу фиксировали к склере. После операции мышечный биоптат отправляли на патоморфологическое исследование.

2.4. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка полученных результатов включала методы описательной статистики: вычисление средних значений и стандартных отклонений ($M \pm S$).

Для сравнения числовых данных и выявления их различий при малом объеме выборки применяли непараметрический критерий Манна – Уитни для несвязанных совокупностей.

Статистическая значимость различий групп для дихотомических и категориальных показателей определялась при помощи теста χ^2 Пирсона в случае независимых групп.

Сравнение трех и более групп по числовым переменным проводили с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллеса.

Анализ зависимых переменных в случае сопоставления двух периодов осуществлялся на основе непараметрического теста Уилкоксона.

Статистически значимыми считались отличия при $p < 0,05$ (95% уровень значимости) и при $p < 0,01$ (99% уровень значимости).

Статистическая обработка данных выполнена на персональном компьютере с помощью электронных таблиц "Microsoft Excel" и пакета прикладных программ Statistica10.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Особенности течения клинических форм эндокринной офтальмопатии

В ходе работы обследовано 75 больных (150 орбит) эндокринной офтальмопатией. Из них 52 больных (104 орбиты) были обследованы и пролечены нами. Ретроспективная оценка состояния клинической картины до ГК терапии проведена по медицинской документации у 23 больных (46 орбит).

Распределение больных ЭОП по клиническим формам представлено в Таблице 6.

Как видно из Таблицы 6, большее количество больных составили пациенты в активной стадии воспаления. Активность процесса определяли с учетом анамнеза: активная стадия отечного экзофтальма длится до 18 мес., эндокринной миопатии – до 5 месяцев; стадию компенсации патологического процесса – по степени выраженности клинических симптомов (суб- и декомпенсированный отечный экзофтальм) [7, 10].

Таблица 6.

Распределение больных ЭОП по клиническим формам

<i>Клиническая форма ЭОП</i>	<i>Стадия процесса</i>	<i>№ больных (количество орбит)</i>
Отечный экзофтальм, миогенный вариант	суб- и декомпенсация	37 (74)
Отечный экзофтальм, липогенный вариант	компенсация	12 (24)
Отечный экзофтальм, смешанный вариант	суб- и декомпенсация	9 (18)
Эндокринная миопатия	активная	8 (16)
Эндокринная миопатия	стадия фиброза	9 (18)
Всего		75 (150)

По клинической картине и длительности анамнеза заболевания активная стадия определена у 66 больных (132 орбиты) – 88,0%, стадия фиброза – у 9 больных (18 орбит) – 12,0%.

При оценке гендерной зависимости среди больных ЭОП преобладали женщины – 58 (77,3%), мужчин – 17 (22,7%).

Средний возраст больных $52,65 \pm 12,6$ года (от 27 и до 84 лет).

Длительность анамнеза заболевания у больных ЭОП составляла от 2 месяцев до 4 лет (Таблица 7).

Таблица 7.

Длительность анамнеза у больных ЭОП с учетом клинических форм

<i>Варианты клинических форм ЭОП</i>	<i>Средняя длительность анамнеза (мес.)</i>
Миогенный вариант отечного экзофтальма	$7,3 \pm 3,4$
Липогенный вариант отечного экзофтальма	$25,9 \pm 14,2^*$
Смешанный вариант отечного экзофтальма	$7,6 \pm 3,8$
Эндокринная миопатия, активная	$4,4 \pm 1,5$
Эндокринная миопатия, стадия фиброза	$7,8 \pm 2,1^*$

*Примечание.** – Длительность анамнеза до начала лечения. ГК терапию проводили по месту жительства. Оценка эффективности ГК терапии проведена ретроспективно

Средняя длительность анамнеза у больных активной эндокринной миопатией составила $4,4 \pm 1,5$ месяцев и $7,8 \pm 2,1$ месяцев при фибротизации ЭОМ, что подтверждается ранее представленными литературными данными [6, 7, 10].

Средняя продолжительность анамнеза липогенного варианта ОЭ – $25,9 \pm 14,2$ месяцев, что соответствует его торпидному течению и медленному развитию клинической картины [9].

Короткий анамнез заболевания в группе больных миогенным ($7,3 \pm 3,4$ месяцев) и смешанным ($7,6 \pm 3,8$ месяцев) вариантами ОЭ подтверждает наличие активного воспаления в мягкотканном содержимом орбите, главным образом, в экстраокулярных мышцах вследствие его инфильтрации клетками воспаления [74, 80, 117].

Клиническую картину в группе больных ЭОП оценивали по характерному симптомокомплексу. Частота выявленных клинических симптомов у больных ЭОП представлена в Таблице 8.

Таблица 8.

Частота клинических симптомов у больных ЭОП до начала ГКТ

<i>Клинические симптомы</i>	<i>Частота встречаемости, %</i>
Ретракция верхнего века	100,0
Симптом Грефе +	100,0
Неполное смыкание век	65,3
Невоспалительный отек век	77,3
Экзофтальм:	
– осевой	77,3
– с отклонением	22,7
Ограниченная подвижность глаз	84
Затрудненная репозиция	100
Офтальмогипертензия	13,3
Симптом «креста»	72
Отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки	61,3
«Белый» хемоз	49,3
«Красный» хемоз	12,0
Сниженная чувствительность роговицы	9,3
Кератопатия	9,3
Оптическая нейропатия	6,7

Как следует из Таблицы 8, у подавляющего большинства больных разными клиническими формами ЭОП присутствовали признаки суб- и декомпенсации (экзофтальм осевой/ с отклонением, ограниченная подвижность глаз, затрудненная репозиция, офтальмогипертензия, симптом "креста", отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки, "белый" или "красный" хемоз, кератопатия, оптическая нейропатия).

3.1.1. Клиническое течение миогенного и смешанного варианта отечного экзофтальма

Миогенный и смешанный вариант отечного экзофтальма в нашей группе больных составил 61,3% (92 орбиты).

Из них субкомпенсация патологического процесса определена у 37 (74 орбиты) – 80,4%, декомпенсация – у 9 (14 орбит) – 19,6%. Данные клинические формы ОЭ преобладали у женщин – 80,4%.

Средний возраст больных составил $51,5 \pm 9,7$ лет.

У 82,6% клиническая картина миогенного и смешанного варианта ОЭ развилась на фоне гиперфункции ЩЖ, у 10,9% при ее гипофункции, эутиреоидное состояние функции ЩЖ наблюдали у 6,5% больных (Таблица 9).

Таблица 9.

Распределение больных по полу в зависимости от функции щитовидной железы

Функция ЩЖ	Пол		Всего
	М	Ж	
Гипертиреоз	8	30	38
Гипотиреоз	1	4	5
Эутиреоз	1	2	3
Всего	10	36	46

Частота выявленных клинических симптомов у больных миогенным и смешанным вариантом отечного экзофтальма представлена в Таблице 10.

Таблица 10.

Частота встречаемости клинических симптомов у больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ

Клинические симптомы	Частота встречаемости, %
Ретракция верхнего века	100,0
Симптом Грефе +	100,0
Неполное смыкание век	78,3
Невоспалительный отек век	100,0
Экзофтальм:	100,0
– осевой	63,0

Продолжение таблицы 10	
<i>Клинические симптомы</i>	<i>Частота встречаемости, %</i>
– с отклонением	37,0
Ограниченная подвижность глаз	61,3
Затрудненная репозиция	100,0
Офтальмогипертензия	13,3
«Белый» хемоз	84,8
Симптом «креста»	61,3
Отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки	61,3
«Красный» хемоз	15,2
Сниженная чувствительность роговицы	15,2
Кератопатия	15,2
Оптическая нейропатия	10,9

Все больные предъявляли жалобы на "выпячивание" глаз, что было обусловлено увеличением глазной щели и повышенным слезотечением в начале заболевания, соответствующие симптомам, так называемого, тиреотоксического псевдоэкзофтальма, возникающего вследствие активации симпатической нервной системы, преимущественно за счет ретракции верхнего века и увеличения площади бульбарной конъюнктивы [6, 8].

В сроках от 1 до 3 месяцев присоединился отек, больше верхнего века, появлялось двоение, покраснение глаз.

При объективном осмотре у всех больных отмечен невоспалительный отек век, ретракция верхнего века, приводящая к положительному симптому Грефе.

Экзофтальм колебался от 27 до 30 мм, среднее значение которого в группе больных миогенным вариантом отечного экзофтальма составило на OD $27,7 \pm 2,2$ мм, на OS $27,4 \pm 1,7$ мм, у больных смешанным вариантом ОЭ на OD $26,7 \pm 1,5$ мм, на OS $26,6 \pm 1,0$ мм.

Ограничение подвижности глаз отмечено во всех случаях (Таблица 11).

Таблица 11.

Ограничение подвижности глаз у больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ

<i>Ограничение подвижности глаза</i>	<i>Частота случаев (%)</i>
Книзу	80,7
Кнутри	32,6
Кнаружи	21,7
Кверху	95,7

Как следует из Таблицы 11, отмечена большая частота ограничений движений глаз кверху и кнаружи, что свидетельствует о вовлечении в патологический процесс мышц вертикального действия, главным образом, нижней прямой ЭОМ. Данное обстоятельство подтверждается увеличенными размерами ЭОМ по данным эхобиометрии.

Средняя величина пораженных экстраокулярных мышц по данным эхобиометрии представлена в Таблице 12.

Таблица 12.

Толщина поперечника ЭОМ у больных миогенным и смешанным ОЭ по данным эхобиометрии

	<i>Толщина поперечника ЭОМ у больных (мм)</i>		<i>Толщина поперечника ЭОМ в норме (мм) по данным УЗИ [29]</i>
	OD	OS	
Верхняя прямая мышца	7,1±0,5	7,1±0,5	3,7±0,65
Нижняя прямая мышца	7,2±0,8	7,3±0,9	3,1±0,66
Внутренняя прямая мышца	5,9±0,4	5,8±0,4	4,0±0,76
Наружная прямая мышца	5,2±0,4	5,3±0,6	3,5±0,36

Как следует из Таблицы 12, больше всего страдают мышцы вертикального направления действия, и, в первую очередь, речь идет о нижней прямой мышце.

Рисунок 1 демонстрирует значительное процентное увеличение нижней и верхней прямой мышц у больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ. Следует отметить, что и внутренняя прямая и наружная прямая мышцы по своим размерам также превалирует над нормальными показателями, но в меньшей сте-

пени. Эти расчеты подтверждают высказанное выше мнение (Таблица 12) о нарушении функции верхней и нижней прямой мышц.

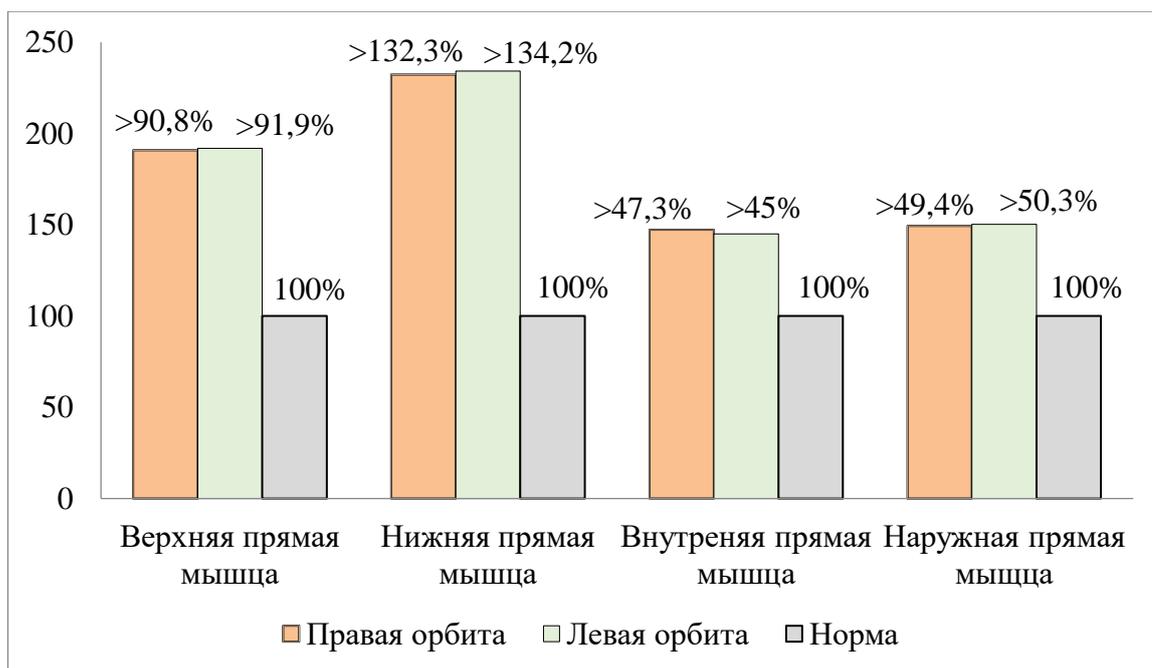


Рисунок 1. Степень увеличения ЭОМ у пациентов миогенным и смешанным вариантом ОЭ по сравнению с нормой

Симптом «креста» как свидетельство повышения эписклерального венозного давления встречался у каждого нашего больного.

Увеличение в размерах орбитального содержимого приводило к затрудненной репозиции глаз и развитию офтальмогипертензии у 13,3% больных.

У всех больных обращало на себя внимание отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки, что наряду с симптомом «креста» – первый признак венозного стаза в орбите. Появление указанных симптомов можно объяснить анатомическими особенностями: верхняя глазная вена проходит через верхнюю глазничную щель через кавернозный синус между верхним краем наружной прямой мышцы и наружным краем верхней прямой мышцы [3]. При ОЭ эти мышцы, как правило, увеличены и верхняя глазная вена, диаметр которой не превышает 2 мм, оказывается комплиментарна.

По мере нарастания патологического процесса в орбите присоединялось появление «красного» хемоза. У 3 мужчин и 2 женщин «красный» хемоз локализовался в наружном квадранте бульбарной конъюнктивы, у 1 больного – во внут-

реннем квадранте, диффузный хемоз отмечен у 1 больного. Подобное расположение отека бульбарной конъюнктивы возможно объяснить преимущественным страданием одной-двух прямых мышц глаза.

Ретракция верхнего века, большая степень экзофтальма, неполное смыкание глазной щели с ущемлением в ней отечной бульбарной конъюнктивы, отека гиперемизированного слезного мясца и полулунной складки способствовали формированию у всех больных в нижних отделах роговицы поверхностных эпителиальных инфильтратов и снижению чувствительности роговицы. Подобное повреждение роговицы объясняется анатомическим расположением краевой петлистой сети роговицы и нервного сплетения, расположенных в перилимбальных отделах.

Снижение остроты зрения у 5 (10,9%) больных от 0,7 до 0,1 вызвано оптической нейропатией вследствие нарушения венозного оттока из орбиты, картиной стаза ретинальных вен и застойными изменениями в диске зрительного нерва, что подтверждает ранее опубликованные в литературе сведения [4].

Понимание механизма развития клинических симптомов ОЭ и ЭМ находили по результатам эхобиометрии, КТ орбит, патоморфологическому исследованию биоптата – подтверждающий этап клинико-инструментального диагноза.

В качестве примера приводим описание результатов исследования пациента С., 56 лет (Рисунок 2).



Рисунок 2. Фото пациента С., 56 лет. Диагноз – Декомпенсированный отечный экзофтальм. Длительность заболевания – 14 месяцев

У пациента – двусторонний осевой экзофтальм, величина которого на OD = 25 мм, OS = 27 мм; подвижность глаз ограничена во все стороны; репозиция затруднена.

Острота зрения правого глаза – 0,7 не корр., левого глаза – 0,8 не корр.

Офтальмогипертензия (+ пальпаторно).

Глазное дно: ДЗН слегка гиперемирован. Ретинальные вены расширены.

Эхографически на Рисунке 3 представлены увеличенные в поперечнике верхняя прямая мышца (до 6,2 мм) и нижняя прямая мышца (до 6,5 мм), границы которых плохо дифференцируются. На компьютерной томограмме (Рисунок 4) увеличены верхняя, нижняя и внутренняя прямые мышцы.

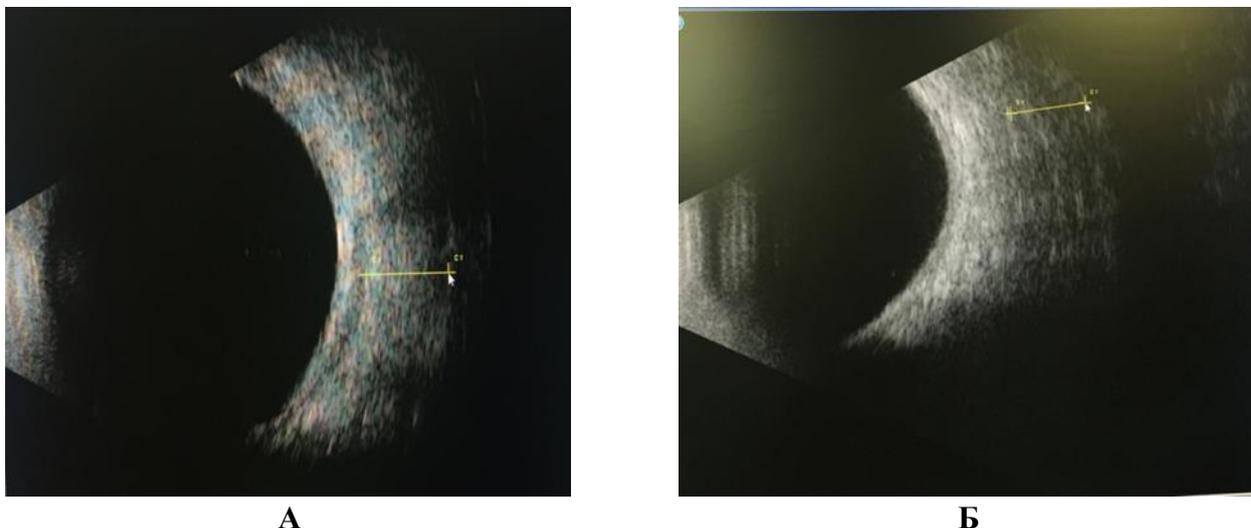


Рисунок 3. Эхограмма орбит того же пациента (пунктиром обозначены увеличенные верхняя прямая мышца (А) и нижняя прямая мышца (Б))

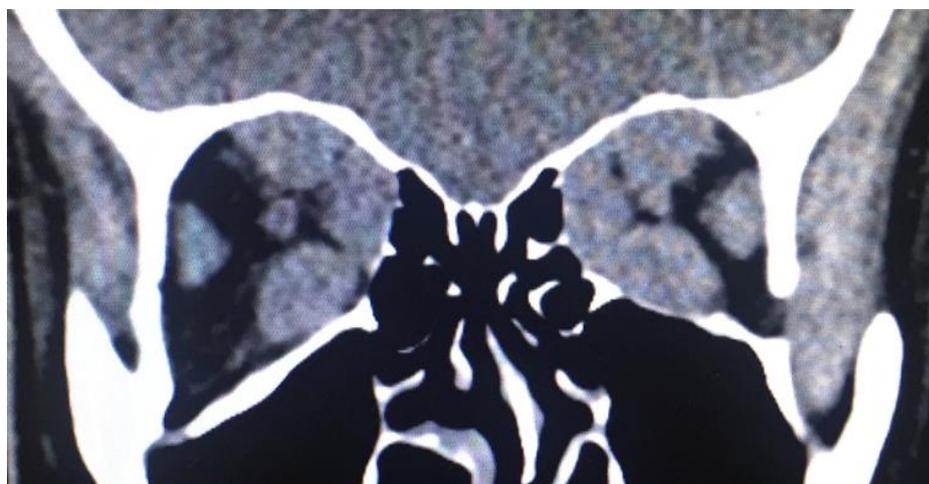


Рисунок 4. Компьютерная томограмма того же пациента (фронтальная проекция)

На фоне проводимой ГКТ – положительная динамика (острота зрения ОУ равна 1,0, уменьшение гиперемии и отека бульбарной конъюнктивы).

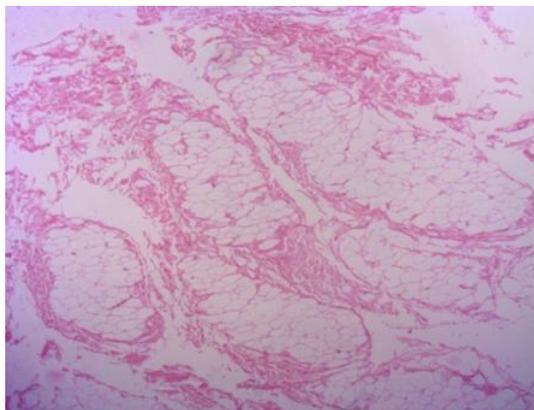
Однако по мере уменьшения дозы ГК «красный» хемоз, отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки возвратились (Рисунок 5).



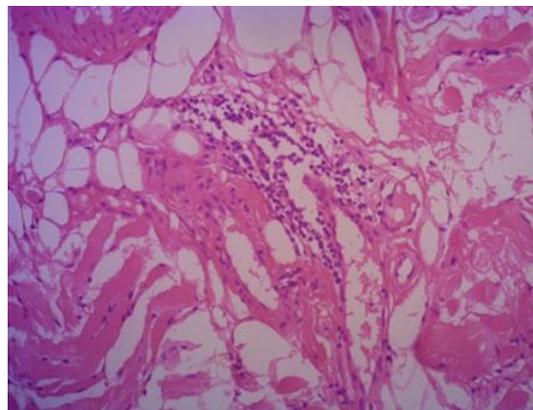
Рисунок 5. Внешний вид больного после 6 инъекции пульс-терапии

Отсутствие стабильного положительного эффекта от ГКТ явилось основанием для проведения декомпрессии как лечебного фактора (объем удаленной орбитальной клетчатки из левой орбиты – 5,0 мл). Взят биоптат орбитальной клетчатки.

Патогистологически, орбитальная клетчатка с фиброзными изменениями: фиброз соединительно-тканых перегородок, разделяющих жировую клетчатку на дольки (Рисунок 6А), эктазия и полнокровия капилляров с единичными очагами периваскулярной лимфоклеточной инфильтрации (Рисунок 6Б). Иными словами, у пациента имелся ОЭ в стадии перехода в фиброз.



А



Б

Рисунок 6. Микрофото биоптата орбитальной клетчатки того же пациента (А – увеличение $\times 50$, Б – увеличение $\times 100$, окраска гематоксилин-эозином)

Таким образом, положительный эффект, который мы наблюдали у пациента, отмеченный в начале ГКТ и был закреплён декомпрессивной операцией, а приведенный случай подтверждает негативный ответ на ГКТ у больных ОЭ в стадии перехода в фиброз.

3.1.2. Особенности клинического течения липогенного варианта отечного экзофтальма

Липогенный вариант отечного экзофтальма наблюдался у 16% больных (24 орбиты). Данная клиническая форма ОЭ в 100% случаев диагностирована у женщин.

Средний возраст больных – $43,2 \pm 10,4$ года.

У 91,6% клиническая картина липогенного варианта ОЭ развилась на фоне гипертиреоза и у 8,4% – гипотиреоза.

Частота выявленных клинических симптомов у больных липогенным вариантом отечного экзофтальма представлена в Таблице 13.

Таблица 13.

Частота встречаемости клинических симптомов у больных липогенным вариантом ОЭ

<i>Клинические симптомы</i>	<i>Частота встречаемости, %</i>
Ретракция верхнего века	100,0
Симптом Грефе +	100,0
Протрузия жировой клетчатки	100,0
Экзофтальм:	
– осевой	100,0
– с отклонением	0
Ограниченная подвижность глаз	0
Затрудненная репозиция	100,0
Офтальмогипертензия	0
«Белый» хемоз	0
Симптом «креста»	0

Продолжение таблицы 13	
<i>Клинические симптомы</i>	<i>Частота встречаемости, %</i>
Отек и гиперемия слезного мясца и полулунной складки	0
«Красный» хемоз	0
Сниженная чувствительность роговицы	0
Кератопатия	0
Оптическая нейропатия	0

Как видно из Таблицы 13, в клинической картине у больных липогенным вариантом ОЭ отмечены ретракция верхнего века, симптом Грефе, протрузия жировой клетчатки, осевой экзофтальм и затрудненная репозиция глаз.

Для данного варианта ОЭ характерно монотонное течение, полная компенсация патологического процесса по зрению и функциям ЭОМ [9].

В нашей группе больных липогенным вариантом ОЭ экзофтальм колебался от 23 до 25 мм, среднее значение которого составило на OD $23,3 \pm 1,5$ мм, на OS $23,6 \pm 1,0$ мм.

У всех больных отмечена полная подвижность глаз во всех направлениях.

Средняя величина экстраокулярных мышц у пациентов липогенным вариантом ОЭ по данным эхобиометрии и степень их увеличения по сравнению с нормой представлены в Таблице 14 и на Рисунке 7.

Таблица 14.

Толщина поперечника ЭОМ у больных липогенным вариантом ОЭ до ГКТ по данным эхобиометрии

	<i>Толщина поперечника ЭОМ у больных (мм)</i>		<i>Толщина поперечника ЭОМ в норме (мм) по данным УЗИ [29]</i>
	OD	OS	
Верхняя прямая мышца	$4,8 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,65$
Нижняя прямая мышца	$4,7 \pm 0,2$	$4,7 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,76$
Внутренняя прямая мышца	$4,4 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,66$
Наружная прямая мышца	$3,9 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,36$

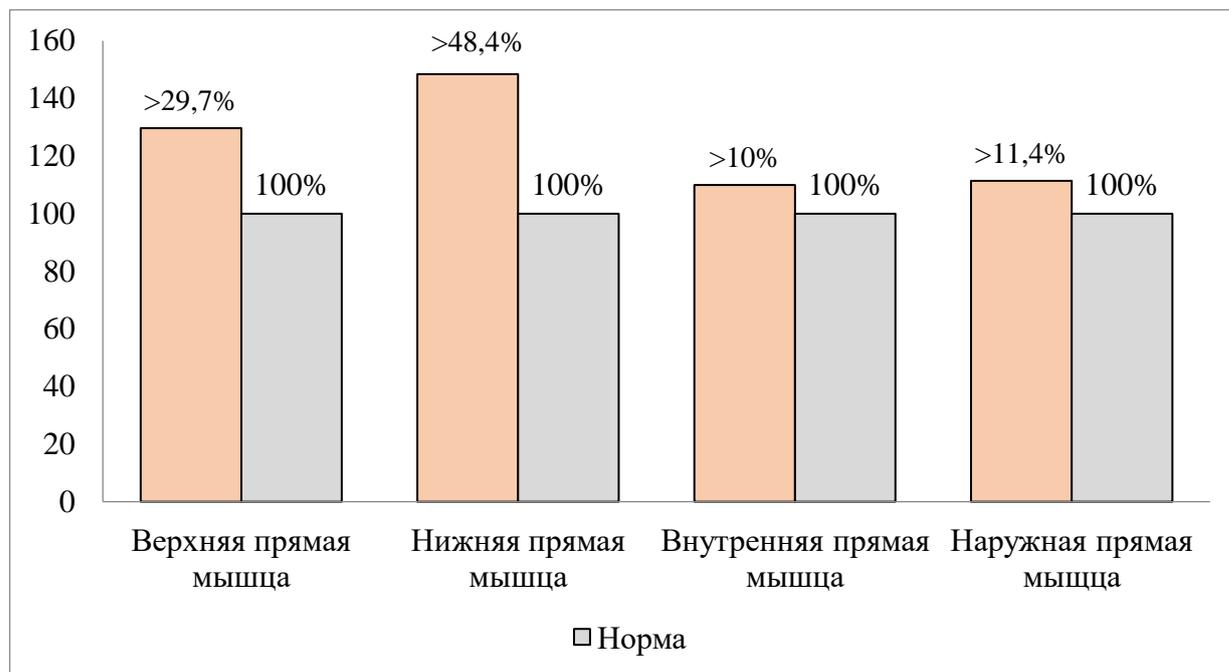


Рисунок 7. Степень увеличения ЭОМ у пациентов липогенным вариантом ОЭ по сравнению с нормой

Как видно из Таблицы 14 и Рисунка 7, все прямые мышцы у больных липогенным вариантом ОЭ задействованы в патологическом процессе. По сравнению с нормальными показателями ЭОМ были увеличены, но степень их увеличения оказалась значительно ниже, чем у больных миогенным и смешанным ОЭ.

В качестве примера приводим наблюдаемый нами случай: пациентка Л., 45 лет имеет длительность заболевания 4 года с жалобами на дискомфортный внешний вид (Рисунок 8).



Рисунок 8. Фото пациентки Л., 45 лет. Диагноз – Липогенный вариант отечного экзофтальма. Длительность заболевания – 2 года

Объективно: двусторонний осевой экзофтальм, по экзофтальмометрии OD = 24 мм, OS = 26 мм; ширина глазной щели OD = 16 мм, OS = 18 мм; подвижность глаз во все стороны в полном объеме; репозиция умеренно затруднена.

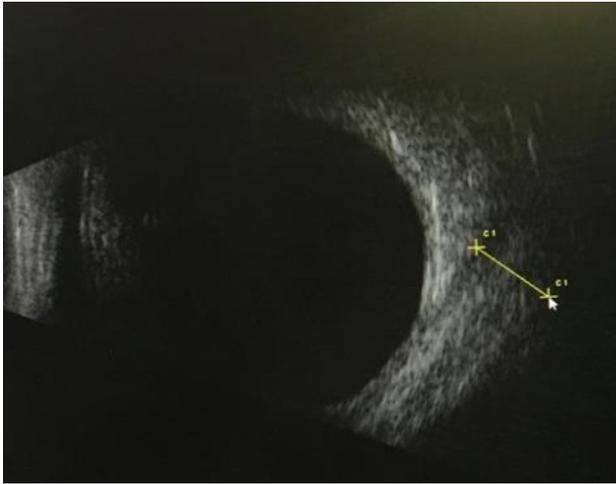
Острота зрения обоих глаз – 1,0.

ВГД (по Маклакову) OD = 16 мм. рт. ст., OS = 17 мм. рт. ст.

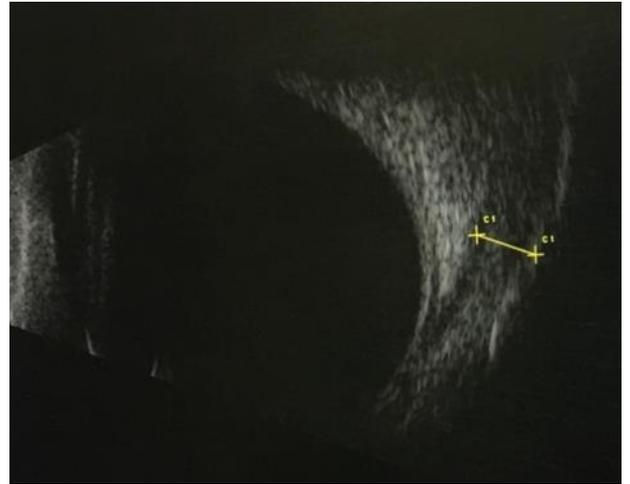
На глазном дне ДЗН и ретинальные сосуды не изменены.

При эхографическом исследовании – утолщение верхней прямой мышцы до 4,8 мм (Рисунок 9А) и нижней прямой до 4,6 мм (Рисунок 9Б).

А на КТ (Рисунок 10) хорошо видны внешне малоизмененные ЭОМ, увеличенный объем орбитальной клетчатки, что и спровоцировало появление экзофтальма.



А



Б

Рисунок 9. Эхограммы орбит той же пациентки



Рисунок 10. Компьютерная томограмма того же пациента (аксиальная проекция)

Окончательный диагноз "Липогенный вариант ОЭ" побудил предложить пациентке декомпрессию операцию на левой орбите. Во время операции удалено 6,0 мл орбитальной клетчатки. Получен хороший косметический эффект, а при патогистологическом исследовании (Рисунок 11) обнаружен фиброз орбитальной клетчатки различной степени зрелости (а - давний с гиалинозом пучков коллагеновых волокон; б - нежно-волокнистый участок формирующейся фиброзной ткани с пролиферацией капилляров и фибробластов с тонкими пучками коллагеновых волокон (в)), что подтверждает диагноз "Липогенного варианта ОЭ".

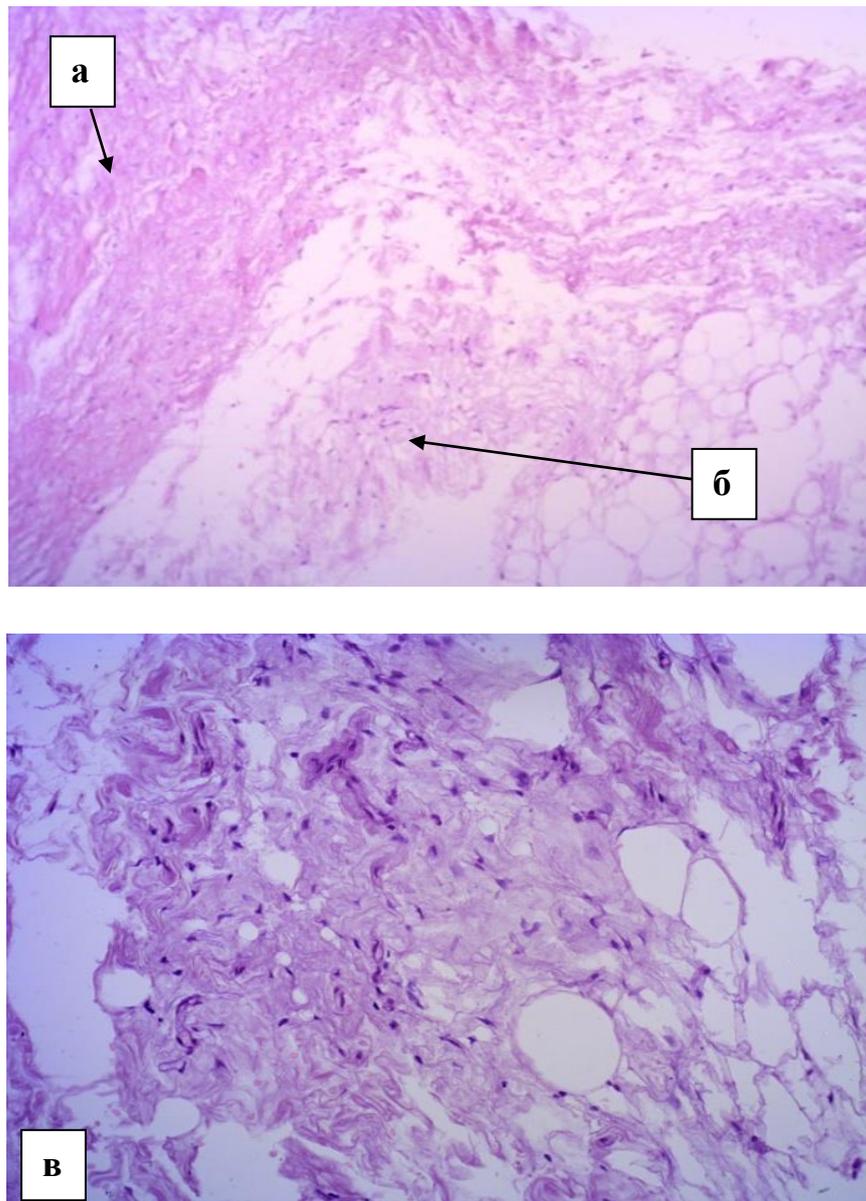


Рисунок 11. Микрофото биоптата орбитальной клетчатки у той же больной (увеличение $\times 100$, окраска гематоксилин-эозином)

Резюмируя изложенное, липогенный вариант отечного экзофтальма проявляется, как правило, клиническим симптомом – экзофтальмом ввиду увеличения в объеме жировой клетчатки и патогенетически правильным методом лечения следует признать хирургическое удаление избыточно увеличенной орбитальной клетчатки.

3.1.3. Клиническое течение эндокринной миопатии

Эндокринная миопатия – клиническая форма ЭОП, характеризующаяся появлением в начале заболевания преходящей диплопии с переходом в стойкую, небольшим экзофтальмом и отклонением глаза в сторону поврежденной мышцы.

Эта форма ЭОП диагностирована у 17 больных (22,7%) ЭОП. Активная форма ЭМ отмечена у 8 больных (16 орбит), стадия фибротизации – у 9 больных (18 орбит).

Заболевание превалировало у женщин - 13 (76,5%), мужчин – 4 (23,5%).

Средний возраст больных составил $60,1 \pm 6,6$ лет.

В 64,7% случаев клинические симптомы эндокринной миопатии развилась на фоне гиперфункции ЩЖ, у 23,5% – при ее гипофункции, эутиреоидное состояние функции ЩЖ наблюдали у 11,8% больных (Таблица 15).

Таблица 15.

Распределение больных эндокринной миопатией по полу в зависимости от функции ЩЖ

Функция ЩЖ	Пол		Всего
	м	ж	
Гипертиреоз	3	8	11
Гипотиреоз	1	3	4
Эутиреоз	1	1	2
Всего	5	12	17

Клинические симптомы у больных этой группы были малочисленны (Таблица 16) и представлены практически все равнозначно, с отсутствием признаков декомпенсации процесса и нарушения зрительных функций.

Частота выявленных клинических симптомов у больных эндокринной миопатией представлена в Таблице 16.

Таблица 16.

Частота встречаемости клинических симптомов у больных
эндокринной миопатией

<i>Клинические симптомы</i>	<i>Частота встречаемости, %</i>
Ретракция верхнего века	100,0
Симптом Грефе +	100,0
Экзофтальм	100,0
Затрудненная репозиция	100,0
Ограничение подвижности глаза	100,0
Отклонение глаза	100,0

Жалобы пациентов оказались одинаковы и ограничивались диплопией преимущественно по вертикали и косоглазием.

Экзофтальм был значительно меньше, чем в предыдущих группах (от 14 до 23 мм), среднее значение которого в активной стадии составило на OD $18,6 \pm 3,6$ мм, на OS $18,5 \pm 1,1$ мм; в стадии фибротизации процесса – на OD $17,8 \pm 4,1$ мм, на OS $16,8 \pm 3,4$ мм.

Превалировало ограничение подвижности глаз книзу, что свидетельствовало о вовлечении в патологический процесс нижней прямой мышцы (Таблица 17).

Таблица 17.

Толщина поперечника ЭОМ у больных ЭМ по данным эхобиометрии

	<i>Толщина поперечника ЭОМ у больных, мм</i>		<i>Толщина поперечника ЭОМ в норме, мм [29]</i>
	OD	OS	
Верхняя прямая мышца	$5,8 \pm 0,4$	$5,7 \pm 0,4$	$3,7 \pm 0,65$
Нижняя прямая мышца	$6,8 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,66$
Внутренняя прямая мышца	$5,0 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,76$
Наружная прямая мышца	$4,1 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,36$

Приведенные в Таблице 17 и на Рисунке 12 данные подтверждают высказанные ранее мнения, что при ЭМ в большей степени страдают мышцы вертикального действия.

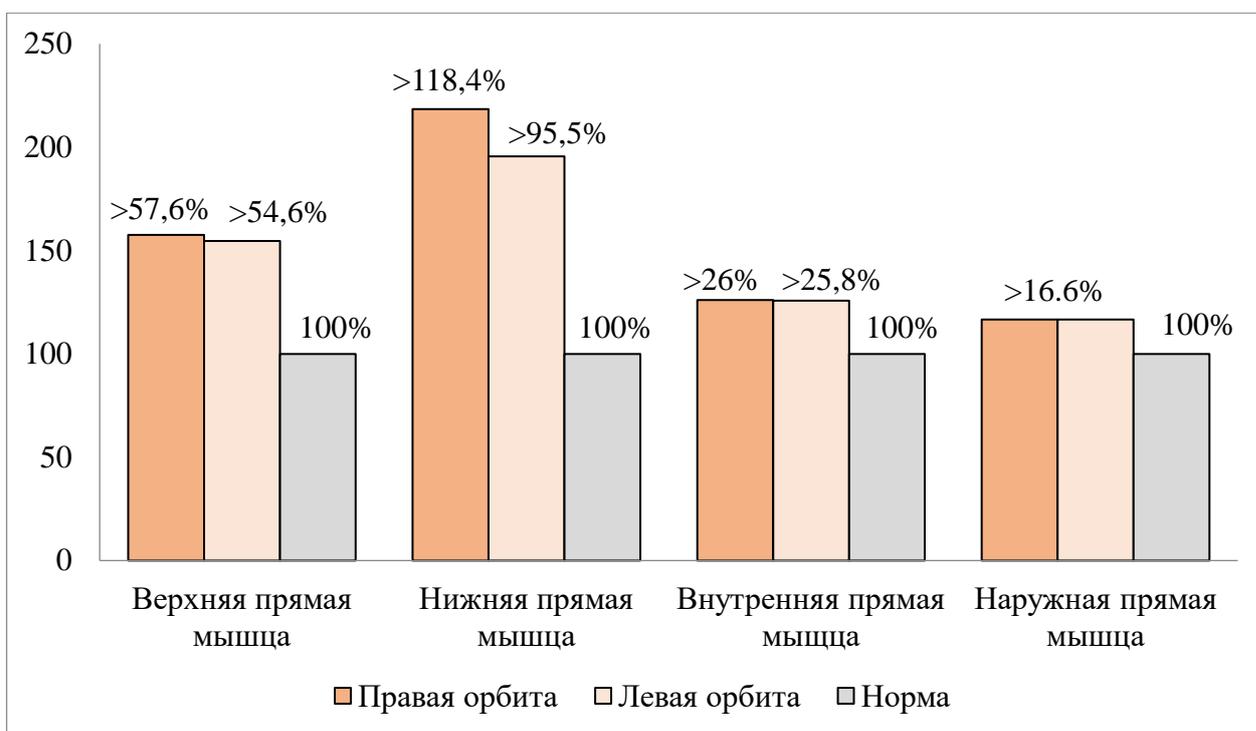


Рисунок 12. Степень увеличения ЭОМ у пациентов эндокринной миопатией по сравнению с нормой

В качестве примера приводим результаты исследования по больному П., 50 лет, который обратился к нам с жалобами на мучительное двоение по вертикали и косоглазие справа (Рисунок 13).



Рисунок 13. Фото пациента П., 50 лет. Диагноз – Эндокринная миопатия, стадия фиброза. Длительность заболевания – 3 года.

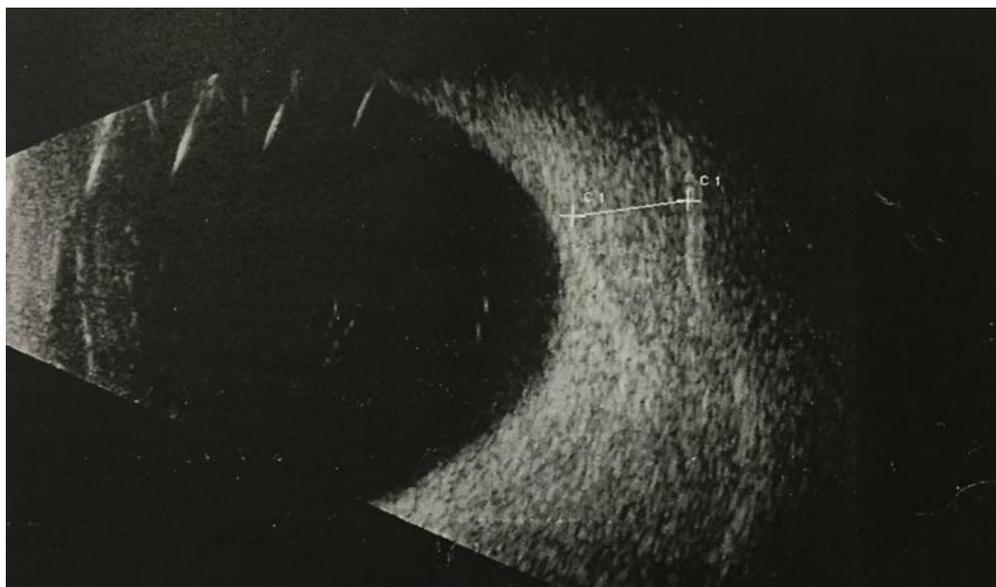


Рисунок 14. Эхограмма орбит того же пациента

Эхографически (Рисунок 14) проецируется тень достаточно плотной нижней прямой мышцы (ширина в зоне брышка до 6,0 мм).

Учитывая длительность анамнеза, характер изменений нижней прямой мышцы, выявленный с помощью эхобиометрии, поставлен окончательный диагноз: эндокринная миопатия в стадии фиброза. Проведена операция с целью нормализации положения глаза.

На Рисунке 15 зона биоптата нижней прямой мышцы представлена отсутствием поперечной исчерченности, соединительной тканью с участками рыхлого и плотно-волокнистого строения, единичным расположением лейкоцитов, что является свидетельством отсутствия активности патологического процесса.

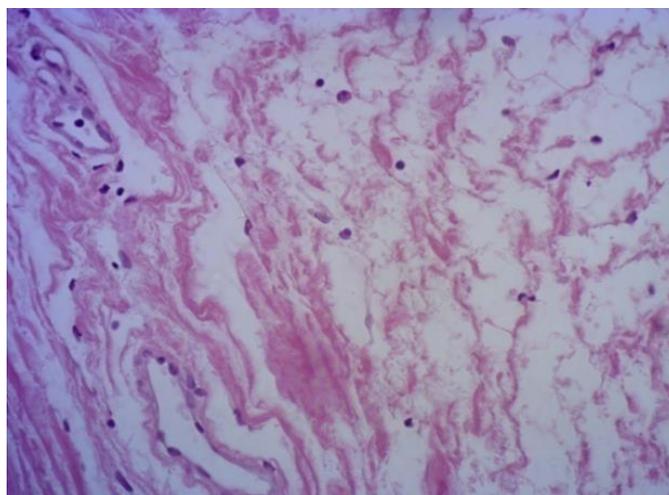


Рисунок 15. Микрофото биоптата нижней прямой мышцы у больного эндокринной миопатии в стадии фиброза (увеличение $\times 400$, окраска гематоксилин-эозином)

Таким образом, для больных ЭМ характерны диплопия с отклонением глаза на фоне легкого экзофтальма. При длительности анамнеза (в стадии фиброза ЭОМ) показано только хирургическое лечение.

3.2. Особенности клинического течения эндокринной офтальмопатии с различным «ответом» на глюкокортикоидную терапию (эффективность, резистентность)

Все больные разными клиническими формами ЭОП были разделены на две группы в зависимости от ответа на проводимую ГК терапию: положительный ответ наблюдали у 43 (57,3%) больных (86 орбит) и его отсутствие – у 32 (42,7%) больных (64 орбиты), из них у 23 больных (46 орбит) ГК терапия проведена по месту жительства и оценена нами ретроспективно.

Характер ответа на ГК терапию с учетом анамнеза заболевания представлен в Таблице 18.

Таблица 18.

Тип ответа на ГК терапию с учетом длительности анамнеза у больных разными клиническими формами ЭОП

<i>Клиническая форма</i>	<i>Ответ на ГКТ</i>	<i>N больных (орбит)</i>	<i>Длительность анамнеза (мес.)</i>
Отечный экзофтальм (миогенный)	Положительный	30 (60)	7,2±2,8
	Резистентность	7 (14)	7,4±4,0
Отечный экзофтальм (липогенный)	Положительный	–	–
	Резистентность	12 (24)	25,9±14,2
Отечный экзофтальм (смешанный)	Положительный	7 (14)	6,4±3,4
	Резистентность	2 (4)	12,0±0
Эндокринная миопатия, активная	Положительный	6 (12)	4,2±1,2
	Резистентность	2 (4)	5,0±2,8
Эндокринная миопатия, стадия фиброза	Положительный	–	–
	Резистентность	9 (18)	7,8±2,1

Оценивая эффективность ГКТ и длительность анамнеза заболевания с учетом клинической формы ЭОП, мы отметили, что положительный стероидный ответ имел место в группе больных с коротким анамнезом заболевания (миогенный вариант ОЭ, смешанный вариант ОЭ и активная ЭМ), что соответствует стадии активной клеточной инфильтрации мягкотканного содержимого орбиты и под-

тверждает ранее использованные в литературе сведения о чувствительных формах ЭОП [6, 7].

Отсутствие эффекта от проводимой ГКТ в группе больных липогенным вариантом ОЭ и ЭМ в стадии фибротизации можно было предположить заранее.

В первом случае отсутствие эффекта от проводимого лечения объясняется особенностями строения орбитальной клетчатки (повышенное содержание дифференцированных фибробластов) и ее невосприимчивостью к воздействию ГК [82].

В группе больных ЭМ со средней длительностью анамнеза заболевания на момент начала терапии $7,8 \pm 2,1$ месяцев, невосприимчивость к ГК можно объяснить формирующимся фиброзом ЭОМ [7, 10].

Критерии оценки ГК терапии определяли по степени выраженности имевшихся клинических симптомов воспалительного процесса (уменьшение или полный регресс отека и гиперемии слезного мясца и полулунной складки, хемоза, уменьшение экзофтальма, восстановление подвижности глаза, повышение или полное восстановление зрительных функций).

У всех больных отмечали уменьшение и отсутствие отека и гиперемии слезного мясца и полулунной складки, хемоза.

У 9 больных (18 орбит) с клинической картиной оптической нейропатии отмечено повышение остроты зрения до 1,0 без коррекции / с коррекцией.

У 18 больных (36 орбит) снижение внутриглазного давления до показателей нормы.

Степень экзофтальма и толщину экстраокулярных мышц в мм оценивали в каждой клинической форме ЭОП до начала и после проведения ГК терапии.

Результаты, приведенные в Таблице 19, свидетельствуют о том, что экзофтальм достоверно уменьшался в группе больных миогенным вариантом ОЭ ($p < 0,0001$), смешанным вариантом ОЭ ($p = 0,0117$ и $p = 0,0077$, соответственно), эндокринной миопатией в активной стадии ($p = 0,0117$).

Экзофтальм у больных ЭОП до и после ГК терапии по данным эхобиометрии

Клиническая форма ЭОП	Экзофтальм (средние показатели в мм)					p
	OS (M ± S)		P	OS (M ± S)		
	до терапии	после терапии		до терапии	после терапии	
Миогенный вариант ОЭ	27,7±2,2	22,2±1,8	<0,0001	27,4±1,7	22,1±1,6	<0,0001
Смешанный вариант ОЭ	26,7±1,5	23,2±1,5	0,0117	26,6±1,0	23,0±1,2	0,0077
Липогенный вариант ОЭ	23,3±1,5	23,0±1,7	0,1088	23,6±1,0	23,3±1,2	0,4185
Эндокринная миопатия, активная	18,6±3,6	16,3±2,6	0,0117	18,5±1,1	16,1±1,6	0,0117
Эндокринная миопатия, стадия фиброза	17,8±4,1	17,4±3,9	0,1797	16,8±3,4	16,8±3,4	–

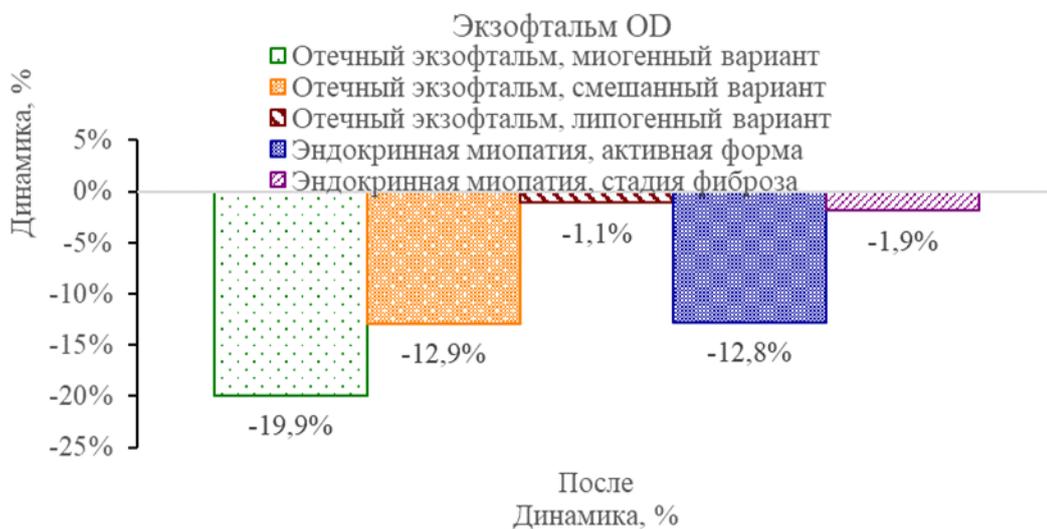
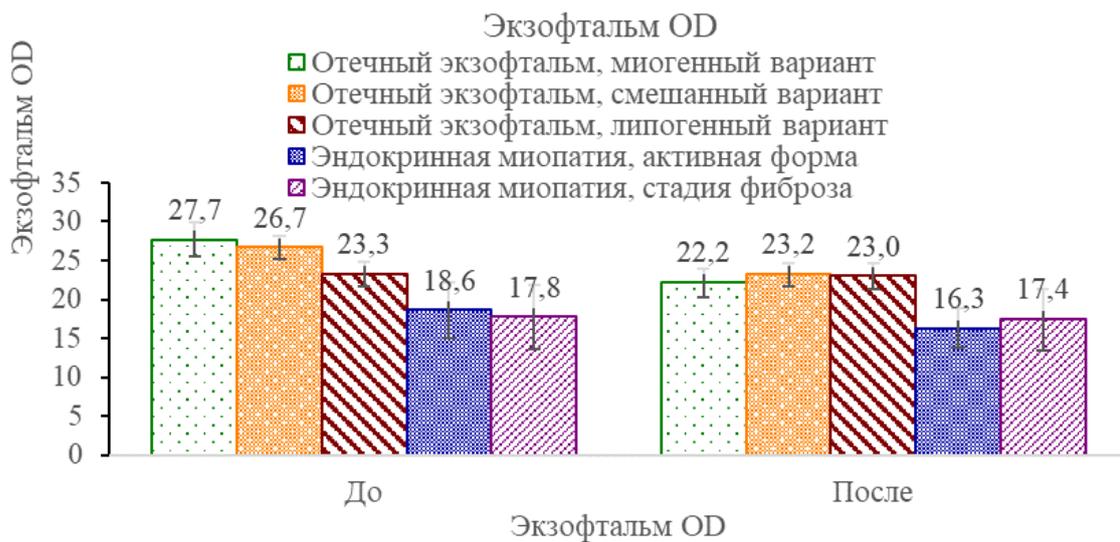


Рисунок 16. Динамика изменения экзофтальма OD у больных разными клиническими формами ЭОП до и после ГКТ

Как следует из Рисунка 16, динамика уменьшения экзофтальма справа отмечена по всем группам от 1,1% до 19,9%.

Показатели экзофтальма у больных миогенным вариантом ОЭ после ГКТ уменьшились на 19,9% ($p < 0,0001$), при смешанном варианте ОЭ на 12,9% ($p = 0,0117$), при липогенном варианте ОЭ на 1,1% ($p = 0,1088$), у больных активной ЭМ на 12,8% ($p = 0,0117$) и эндокринной миопатией в стадии фиброза на 1,9% ($p = 0,1797$).

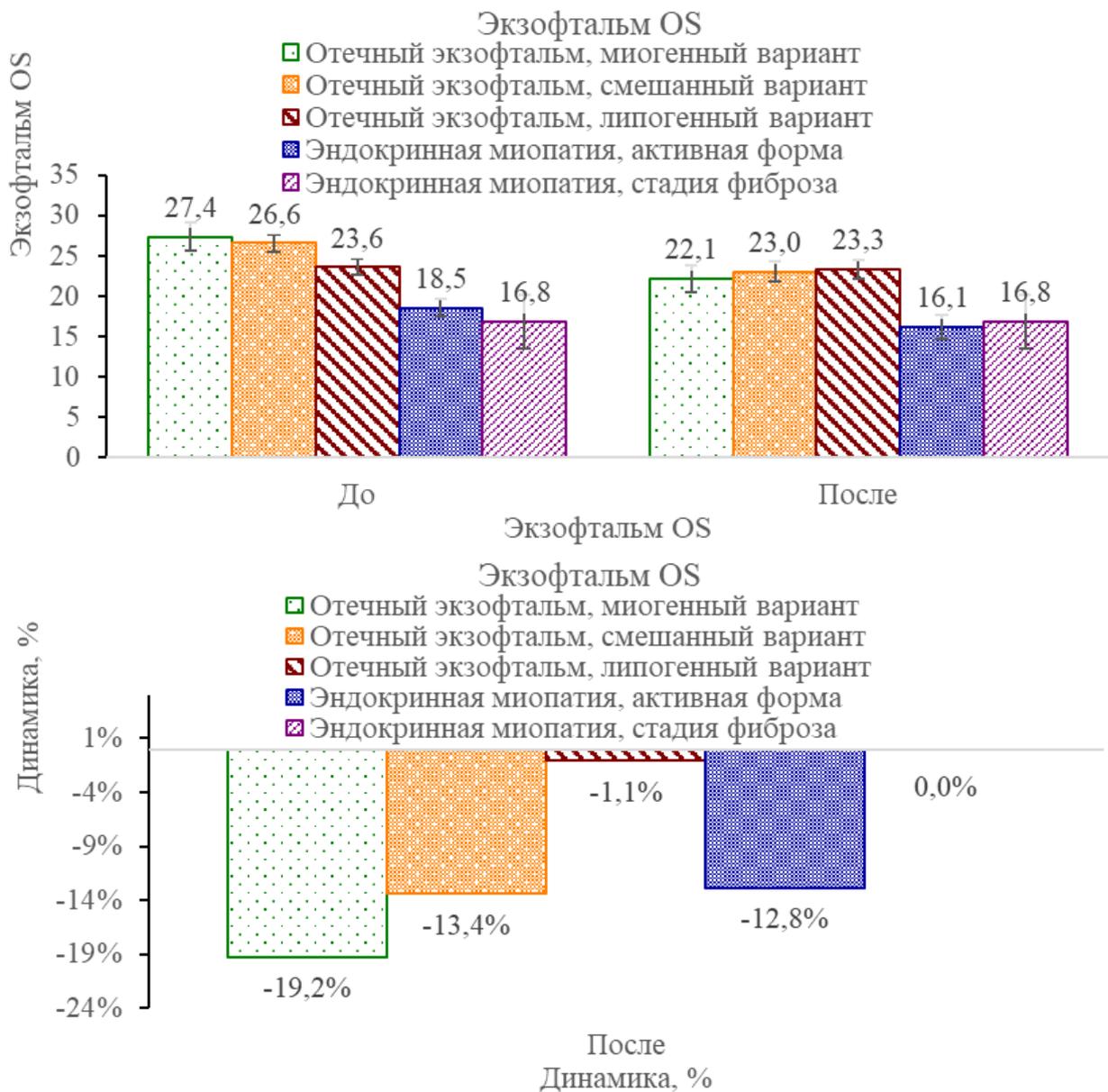


Рисунок 17. Динамика изменения экзофтальма OS у больных разными клиническими формами ЭОП до и после ГКТ

Динамика уменьшения показателей экзофтальма слева также отмечена по всем клиническим формам от 0,0% до 19,2%.

Показатели экзофтальма у больных миогенным вариантом ОЭ после ГКТ уменьшились на 19,25% ($p < 0,0001$), при смешанном варианте ОЭ на 13,39% ($p = 0,0077$), при липогенном варианте ОЭ на 1,06% ($p = 0,4185$), у больных активной ЭМ на 12,84% ($p = 0,0117$).

Что касается величины поперечника ЭОМ (Таблицы 20, 21), то отмечено их неравномерное уменьшение.

Таблица 20.

Толщина поперечника экстраокулярных мышц у больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ до и после ГК терапии по данным эхобиометрии

ЭОМ	Толщина поперечника ЭОМ (средние показатели в мм)					
	OD (M ± S)		p	OS (M ± S)		P
	до терапии	после терапии		до терапии	после терапии	
Верхняя прямая мышца	7,1±0,5	5,2±0,4	< 0,0001	7,1±0,5	5,1±0,5	< 0,0001
Нижняя прямая мышца	7,2±0,8	5,8±0,4	< 0,0001	7,3±0,9	5,8±0,4	< 0,0001
Внутренняя прямая мышца	5,9±0,4	5,4±0,5	< 0,0001	5,8±0,4	5,5±0,5	< 0,0001
Наружная прямая мышца	5,2±0,4	5,0±0,4	0,0057	5,3±0,6	5,0±0,4	0,0212

Таблица 21.

Толщина экстраокулярных мышц у больных ЭМ до и после ГК терапии по данным эхобиометрии

ЭОМ	Толщина поперечника ЭОМ (средние показатели в мм)					
	OD (M ± S)		p	OS (M ± S)		P
	до терапии	после терапии		до терапии	после терапии	
Верхняя прямая мышца	5,8±0,4	5,6±0,3	0,0357	5,7±0,4	5,5±0,3	0,0415
Нижняя прямая мышца	6,8±0,5	5,8±0,5	0,0003	6,1±0,7	5,2±0,3	0,0010
Внутренняя прямая мышца	5,0±0,2	5,0±0,2	–	5,0±0,2	5,0±0,2	–
Наружная прямая мышца	4,1±0,2	4,1±0,2	–	4,1±0,2	4,1±0,2	–

Как следует из Таблиц 20, 21, все ЭОМ после проведенной ГКТ оказались уменьшены, и в большей степени это относится к верхней и нижней прямой мышцам.

Учитывая изменения показателей толщины поперечника ЭОМ у больных миогенным и смешанным вариантами ОЭ и эндокринной миопатии, мы проанализировали динамику уменьшения каждой прямой мышцы до начала и после проведения ГКТ (Рисунки 18–21).

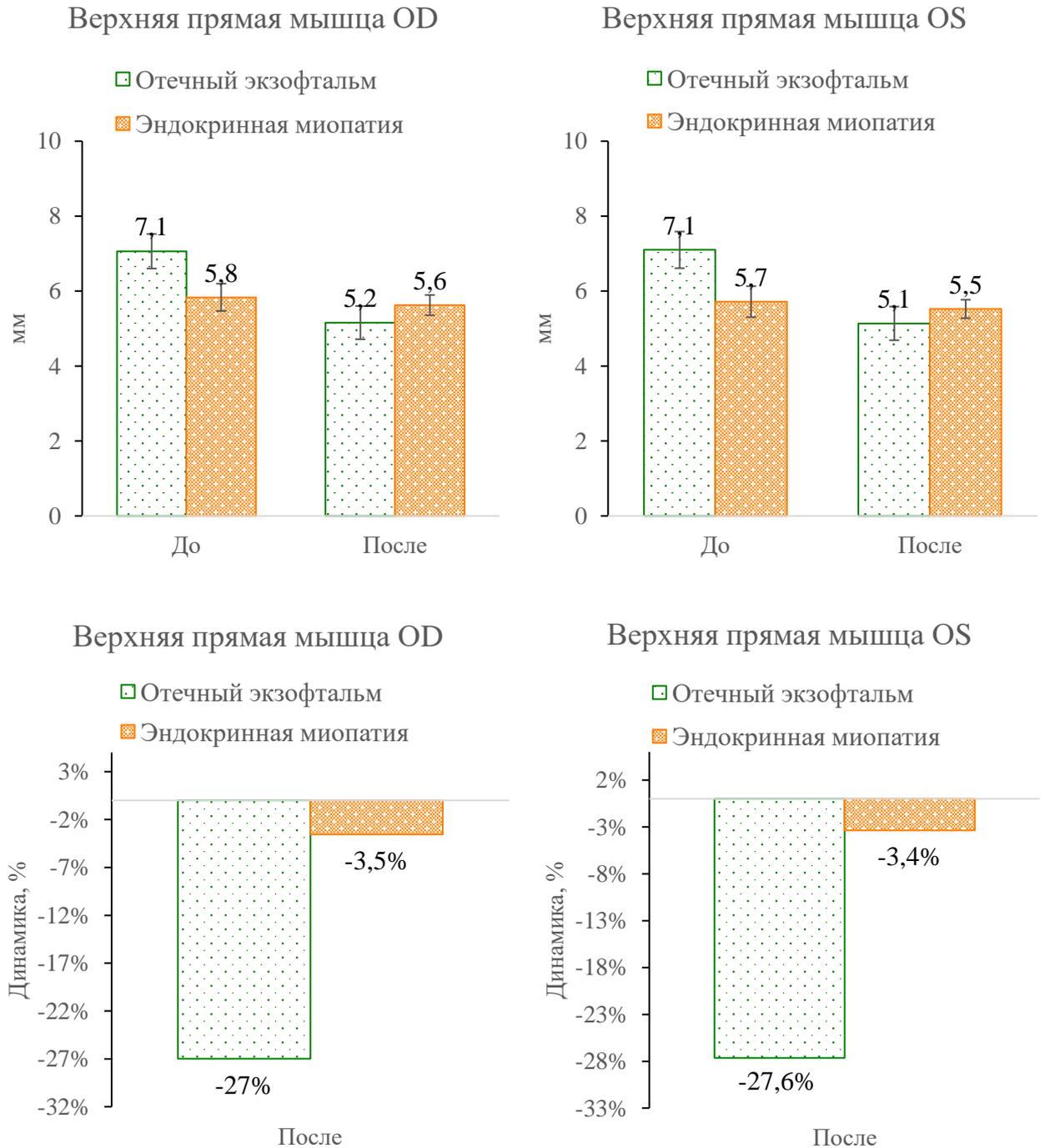


Рисунок 18. Динамика изменения толщины поперечника верхней прямой мышцы у больных миогенным и смешанным ОЭ и ЭМ до и после ГКТ

Проанализировав динамику изменения толщины поперечника верхней прямой мышцы у больных миогенным и смешанным ОЭ и ЭМ до и после ГКТ, отмечено ее уменьшение от 3,4% до 27,6%, соответственно (Рисунок 18).

Наиболее значимые изменения отмечены у больных миогенным и смешанным вариантами ОЭ (уменьшение толщины поперечника верхней прямой ОДна 27,0%, OS на 27,6%; $p < 0,0001$).

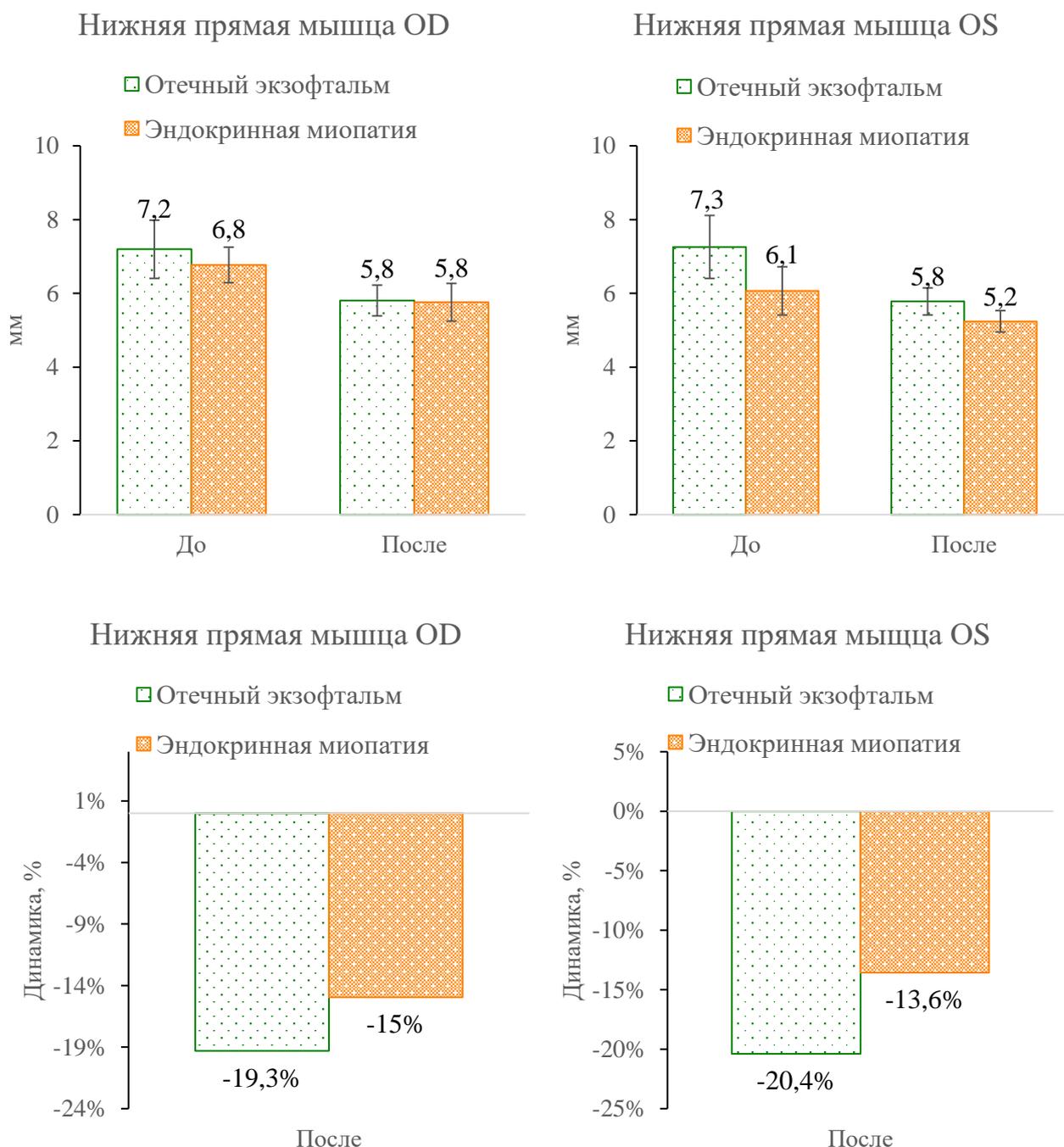
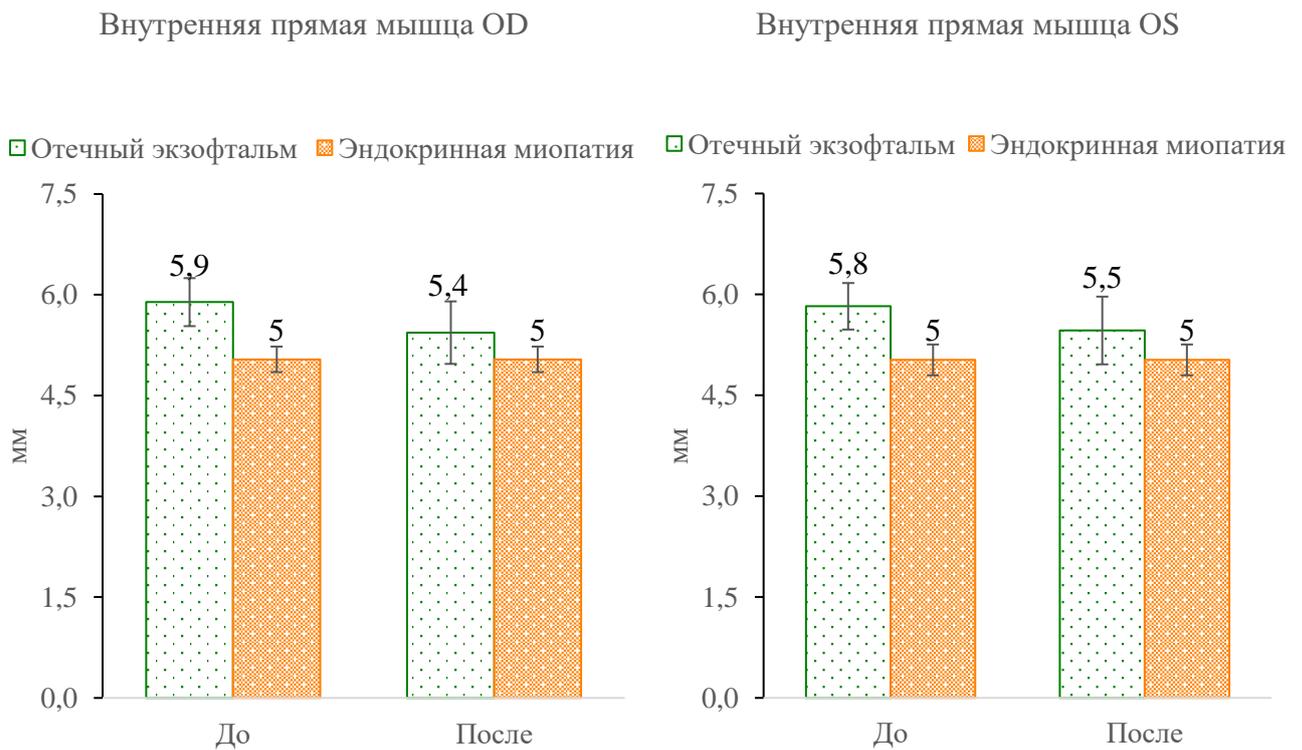


Рисунок 19. Динамика изменения толщины поперечника нижней прямой мышцы у больных миогенным и смешанным ОЭ и ЭМ до и после ГКТ

Динамика изменения толщины поперечника нижней прямой мышцы до и после проведения ГКТ отмечена у всех больных исследуемых клинических форм.

Толщина поперечника нижней прямой мышцы у больных миогенным и смешанным вариантами ОЭ после ГКТ уменьшилась справа на 19,3% ($p < 0,0001$) и слева на 20,4%, соответственно ($p < 0,0001$).

Что касается изменений ЭОМ у больных ЭМ, то по биометрическим показателям прямых мышц, как и в предыдущей группе отмечено уменьшение поперечника нижней прямой мышцы, однако в значительно меньшей степени (справа на 15,0% ($p = 0,0003$) и слева на 13,6% ($p = 0,0010$)). Это объяснимо, так как у больных ЭМ патологический процесс выражен в значительно меньшей степени.



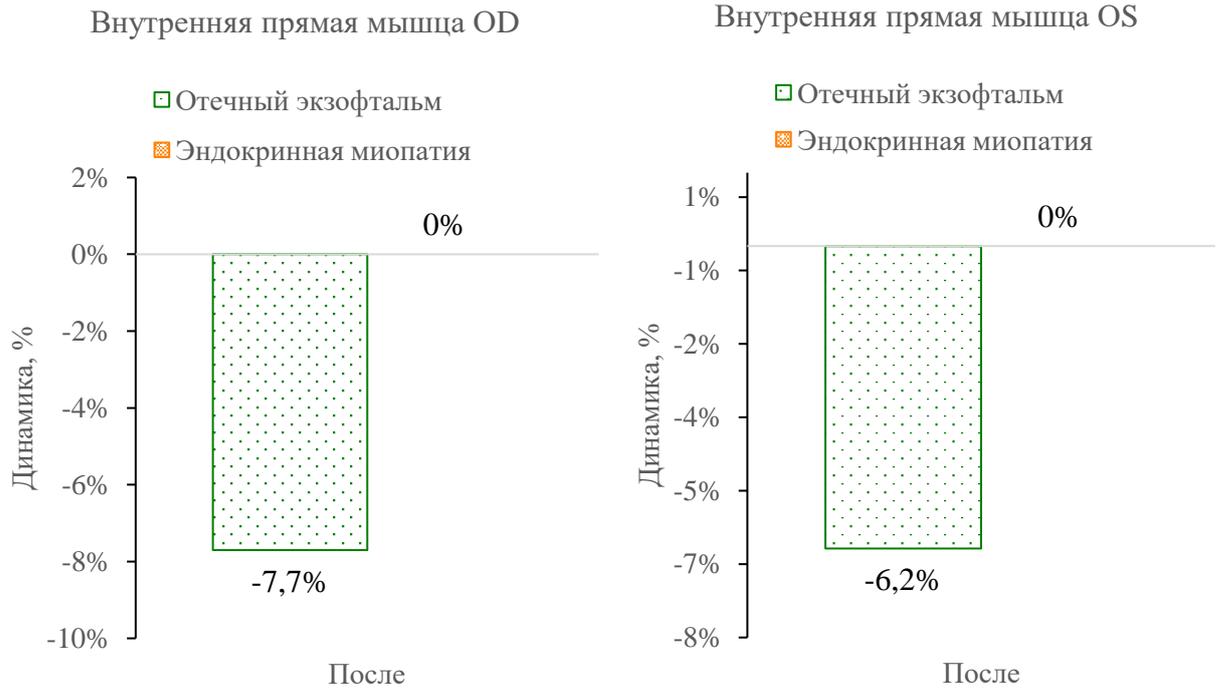
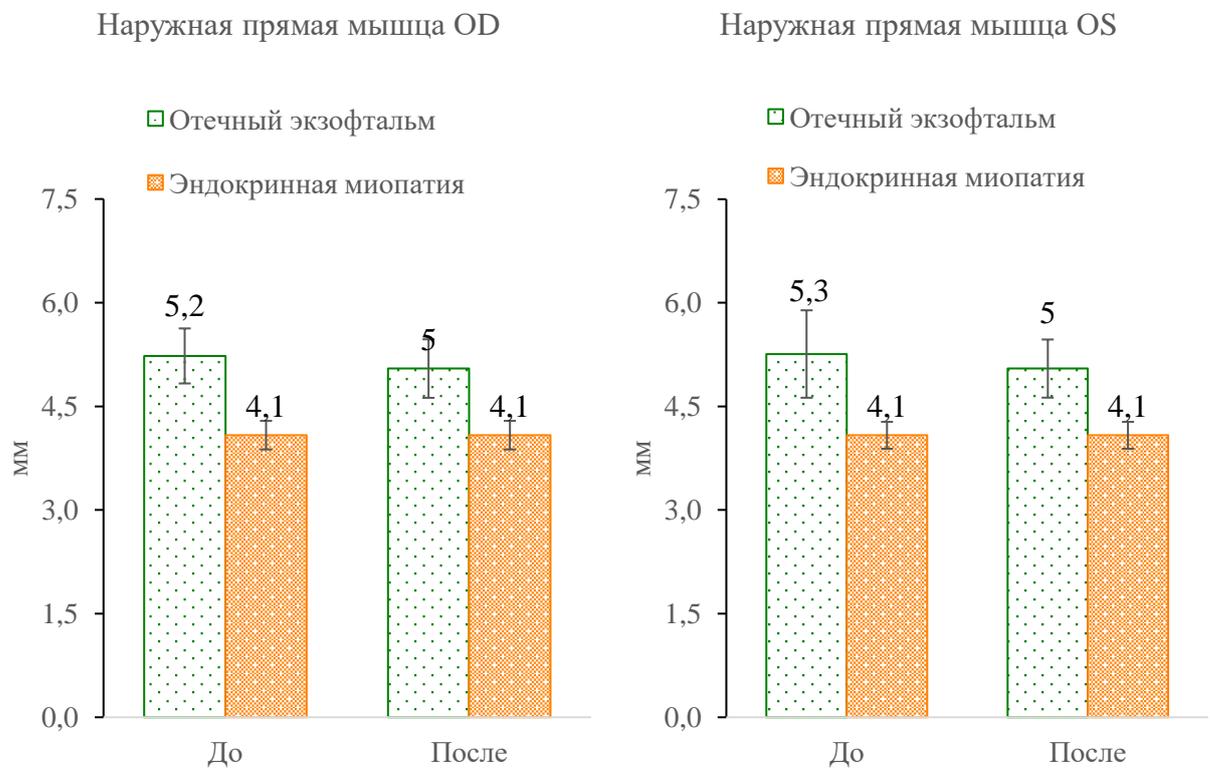


Рисунок 20. Динамика изменения толщины поперечника внутренней прямой мышцы у больных миогенным и смешанным ОЭ и ЭМ до и после ГКТ



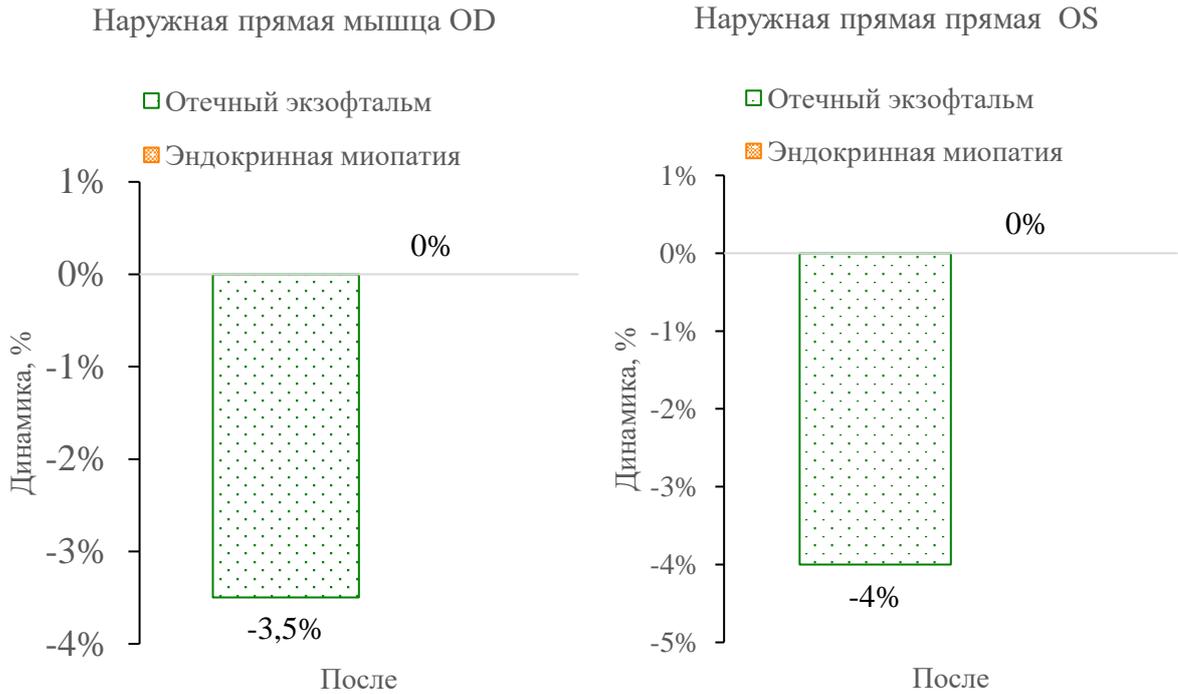


Рисунок 21. Динамика изменения толщины поперечника наружной прямой мышцы у больных миогенным и смешанным ОЭ и ЭМ до и после ГКТ

Что касается динамики уменьшения толщины поперечника внутренней и наружной прямой мышц отмечено незначительное их уменьшение у больных миогенным и смешанным вариантами ОЭ (внутренней прямой мышцы на 6,2 и 7,7%, $p < 0,0001$; наружной прямой мышцы на 3,5 и 4,0%, $p = 0,0057$ и $p = 0,0212$).

Таким образом, положительный терапевтический ответ на проводимую глюкокортикоидную терапию отмечен у больных с коротким анамнезом заболевания (для больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ $7,3 \pm 3,4$ и $7,6 \pm 3,84$ месяцев, для больных эндокринной миопатией $4,4 \pm 1,5$ месяцев), в стадии суб- и декомпенсации патологического процесса с преимущественным повреждением ЭОМ (миогенный и смешанный варианты ОЭ, ЭМ в активной стадии). Отсутствие эффекта от глюкокортикоидной терапии обусловлено фиброзом ЭОМ и орбитальной клетчатки вследствие длительной продолжительности анамнеза заболевания на момент начала ГКТ ($25,9 \pm 14,2$ месяцев для больных липогенным вариантом ОЭ и $7,8 \pm 2,1$ месяцев для эндокринной миопатии в стадии фибротизации).

3.3. Результаты генотипирования по полиморфизму генов *NR3C1*, *CYP3A4* и *CYP3A5*

Результаты генотипирования по полиморфному маркеру rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* в исследуемых группах представлены в Таблицах 22, 23, 24.

Все больные были разделены на 2 группы: с положительным ответом на ГКТ и его отсутствием.

Таблица 22.

Результаты ГКТ терапии у больных ЭОП с учетом распределения генотипов полиморфного маркера rs6190 гена *NR3C1*

<i>NR3C1 (rs6190)</i>	<i>Ответ на терапию</i>		<i>Всего</i>	χ^2	<i>Уровень p, (df = 1)</i>
	Положительный	Отрицательный (резистентность)			
GG	43 (100%)	31 (96,88%)	74	1,3619	0,2432
AG	0 (0,00%)	1 (3,12%)	1		

Таблица 23.

Результаты ГКТ терапии у больных ЭОП с учетом распределения генотипов полиморфного маркера C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*

<i>CYP3A4*22 (C>T intron 6 rs35599367)</i>	<i>Ответ на терапию</i>		<i>Всего</i>	χ^2	<i>Уровень p, (df=1)</i>
	Положительный	Отрицательный (резистентность)			
CC	41 (95,35%)	31 (96,88%)	72	0,1113	0,7387
CT	2 (4,65%)	1 (3,12%)	3		

Таблица 24.

Результаты ГКТ терапии у больных ЭОП с учетом распределения генотипов полиморфного маркера A6986G гена *CYP3A5*

<i>CYP3A5 (A6986G)</i>	<i>Ответ на терапию</i>		<i>Всего</i>	χ^2	<i>Уровень p, (df=1)</i>
	Положительный	Отрицательный (резистентность)			
GG	36 (83,72%)	27 (84,38%)	63	0,0058	0,9391
AG	7 (16,28%)	5 (15,62%)	12		

Как следует из приведенных выше Таблиц 22–24, какой-либо закономерности в распределении носителей гомо- и гетерозиготных генотипов полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* и их влиянии на глюкокортикоидный ответ у больных ЭОП не выявлено ($p>0,05$).

Но отмечена большая частота встречаемости положительного ответа на ГК терапию у больных ЭОП с гомозиготным генотипом полиморфизма всех трех исследуемых генов (соответственно 98,7%, 96,0% и 84%). Подобная частота встречаемости гомозиготных генотипов *NR3C1*, *CYP3A4*, *CYP3A5* соответствует частоте их распространенности среди населения северного и западноевропейского происхождения: 92,8% – гомозиготный генотип GG полиморфизма гена *CYP3A5*, 90,3% – генотип GG полиморфизма гена рГК (сайт SNPedia – база данных однонуклеотидного полиморфизма).

Интересны результаты исследования, представленные Vannucchi G. с соавторами по обследованию больных ЭОП [140]. Авторы анализировали роль четырех других полиморфизмов гена рецептора ГК (*N363S*, *ER22/23EK*, *A3669G* и *VclI*). При сопоставлении результатов исследования больных ЭОП с контролем так же не выявили преимущества ни одного из них.

Сопоставление распределения генотипов по полиморфным маркерам rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* у исследуемых больных ЭОП с их распределением согласно закону Харди–Вайнберга для европейской популяции распределение гомозиготных генотипов исследуемых генов (Таблица 25).

Таблица 25.

Частота генотипов полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* в исследуемых группах и по закону Харди – Вайнберга

<i>NR3C1</i> (rs6190)	Генотип	Всего	Частота распределения генотипов в исследуемой группе	Частота распределения генотипов по закону Харди – Вайнберга
	GG	74	98,7%	98,67%
AG	1	1,3%	0,00%	

Продолжение таблицы 25				
	Генотип	Всего	Частота распределения генотипов в исследуемой группе	Частота распределения генотипов по закону Харди – Вайнберга
CYP3A4*22 (rs35599367)	CC	72	96,0%	96,04%
	CT	3	4,0%	0,04%
CYP3A5 (A6986G)	GG	63	84,0%	98,67%
	AG	12	16,0%	0,00%

С целью уточнения ответа ГК терапии при разных клинических формах ЭОП мы проанализировали результаты ГК терапии в каждой клинической форме с учетом распределения генотипов полиморфизма rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 гена *CYP3A4* и A6986G гена *CYP3A5* (Таблице 26).

Таблица 26.

Ответ на ГК терапию с учетом клинических форм ЭОП и распределения генотипов полиморфизма генов *CYP3A5*, *CYP3A4* и *NR3C1*

Клиническая форма	Ответ на ГКТ	<i>CYP3A5</i> (A6986G)		<i>CYP3A4*22</i> (C>T intron 6 rs35599367)		<i>NR3C1</i> (rs6190)	
		GG	AG	CC	CT	GG	AG
Миогенный вариант ОЭ	положительный	25	5	29	1	30	0
	резистентность	6	1	7	0	7	0
Липогенный вариант ОЭ	резистентность	8*	4*	12*	0	12*	0
Смешанный вариант ОЭ	положительный	6	1	6	1	7	0
	резистентность	2*	0	2*	0	2*	0
Эндокринная миопатия, активная	положительный	5	1	6	0	6	0
	резистентность	2	0	2	0	2	0
Эндокринная миопатия, фиброз	положительный	0	0	0	0	0	0
	резистентность	9*	0	*	0	8*	1
Всего		63	12	73	2	4	1

Примечание. * – ГК терапия проведена по месту жительства

Объяснение такому факту представил в своей работе I. L. Romero-Kusabara [112]. Исследователи выявили повышение уровня экспрессии *NR3C1* непосредственно в мышечной ткани (биоптат измененной мышцы у больных ЭОП) по

сравнению с контрольной группой. Авторы сделали вывод, что чувствительность к ГК может зависеть от баланса между экспрессией *NR3C1* и концентрацией медиаторов воспаления, таких как *NFKB* и *FOS* непосредственно в мышечной ткани. Косвенным подтверждением сказанному могут служить два наших наблюдения.

Речь идет о больных, страдающих смешанным вариантом отечного экзофтальма с анамнезом заболевания до начала ГК терапии в пределах 12 месяцев. В обоих случаях четкого терапевтического ответа на ГКТ не получено. КТ орбит позволило оценить у этих пациентов объем измененных мышц и объем орбитальной клетчатки. Показатели последнего превалировали над нормой. В связи с этим с целью эвакуации избытка орбитальной клетчатки больным была проведена внутренняя декомпрессия орбиты. В послеоперационном периоде косметический и функциональный эффекты хорошие.

Есть основание полагать, что в таких случаях наряду с воспалительными цитокинами немалую роль играет снижение противовоспалительной функции *NR3C1* в орбитальной клетчатке, наполненной дифференцированными фибробластами, что характерно для липогенного варианта отечного экзофтальма [10, 25].

Аналогичный ответ на ГК терапию был получен у всех 12 больных, страдающих липогенным вариантом отечного экзофтальма с анамнезом заболевания в среднем около 25 месяцев. Для этого типа отечного экзофтальма характерно довольно монотонное клиническое течение с осевым экзофтальмом без признаков воспаления, что наблюдается при переходе патологического процесса в стадию фиброза. Процесс, как правило, всегда компенсирован. Именно эти больные в группе отечного экзофтальма и составляют основную стероидорезистентную группу.

Молекулярно-биохимические исследования последних лет позволили объяснить причину неэффективности ГК терапии. Фибробласты в экстраокулярных мышцах у больных ЭОП, как правило, относятся к *Thy-1*положительным, а большинство фибробластов в орбитальном жире – к *Thy-1*отрицательным, они-то и являются зрелыми адипоцитами [80, 82, 142].

Активированные орбитальные фибробласты у больных липогенным отечным экзофтальмом пролиферируют, дифференцируются в зрелые адипоциты, увеличивая объем орбитальной клетчатки [118].

3.4. МикроРНК-146а и микроРНК-155 у больных эндокринной офтальмопатией, результаты исследования

Для оценки влияния показателей экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 на эффективность ГКТ у больных ЭОП в группу исследования вошли 20 больных (40 орбит) разными клиническими формами ЭОП, резистентных к ГК, среднего возраста $52,65 \pm 12,6$ года.

Контрольную группу составили 28 волонтеров, не имеющих аутоиммунных и опухолевых заболеваний в возрасте $62,9 \pm 7,54$ года.

Клинические формы ЭОП представлены в Таблице 27.

Таблица 27.

Клинические формы ЭОП и степень их компенсации

<i>Клиническая форма ЭОП</i>	<i>Степень компенсации процесса</i>	<i>N больных (n орбит)</i>
ОЭ, миогенный и смешанный варианты	суб- и декомпенсация	8 (16)
ОЭ, липогенный вариант	компенсация	7 (14)
Эндокринная миопатия	фиброз	5 (10)
Всего		20 (40)

Таким образом, в исследование вошли равноценные по количеству группы пациентов с суб- и декомпенсацией, и компенсацией патологического процесса, резистентных к ГК терапии.

Следует отметить, что в группе больных миогенным и смешанным вариантом ОЭ при медиане заболевания 6 месяцев у 5 больных на фоне резкой декомпенсации был получен ответ на ГКТ с уменьшением степени выраженности всех клинических симптомов, но по мере увеличения сроков лечения и уменьшения дозы глюкокортикоидов (5–6 неделя от начала лечения/7–8 инъекция метидпреднизолона) наблюдали устойчивый рецидив проявления ОЭ с явлениями субком-

пенсации. Больные с липогенным вариантом ОЭ и ЭМ имели небольшую выраженность клинических симптомов.

Распределение уровней экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови в основной и контрольной группах представлены в Таблице 28.

Таблица 28.

Распределение уровней экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови основной и контрольной группах

Группы больных	микроРНК-146а (отн. ед.)	χ^2	Уровень p (df=1)	микроРНК-155 (отн. ед.)	χ^2	Уровень p (df=1)
Основная группа (n = 20)	0,40±0,39	47,1175	p<0,0001	0,08±0,05	25,1847	p< 0,0001
Контрольная группа (n = 28)	0,01±0,02			0,04±0,04		
Чувствительность	90,0%			80,0%		
Специфичность	85,71%			78,57%		
Эффективность	87,86%			79,29%		

Различия в распределении уровней экспрессии микроРНК-146 и микроРНК-155 в плазме крови в основной и контрольной группах статистически значимы (p<0,0001).

Уровень экспрессии микроРНК-146а в плазме крови в целом по группе больных ЭОП в 21,8 раза превышает уровень микроРНК-146а контрольной группы. А экспрессия микроРНК-155 в плазме крови этих же больных превышает уровень контрольной группы в 1,71 раза.

На основании данных, представленных в Таблице 29, можно сделать вывод о том, что под влиянием микроРНК-146а и микроРНК-155 риски развития резистентности к ГКТ увеличиваются от 47,1% до 60,0%.

Таблица 29.

Влияние микроРНК-146а и микроРНК-155 на формирование резистентности к ГКТ (оценка абсолютных рисков, изменение риска, относительный риск)

Фактор	Основная группа: частота (риск, %)		Изменение риска (95%-й ДИ)	Относительный риск (95%-й ДИ)	Уровень <i>p</i>
	Фактор: есть	Фактор: нет			
МикроРНК-146а ≥ 0,024	2 (2,703%)	18 (60,000%)	57,297 (39,4; 75,2)	22,2 (5,49; 89,84)	<0,0001
МикроРНК-155 ≥ 0,060	4 (5,714%)	16 (47,059%)	41,345 (23,7; 59,0)	8,24 (2,98; 22,75)	<0,0001

С целью более точной оценки уровня экспрессии микроРНК больные ЭОП вновь были разделены на группы.

На Рисунке 22 представлены уровни экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови больных разными клиническими формами ЭОП, резистентных к ГК. Оказалось, что экспрессия микроРНК-146 и микроРНК-155 в плазме крови была повышена у больных всех 3 клинических форм ЭОП.

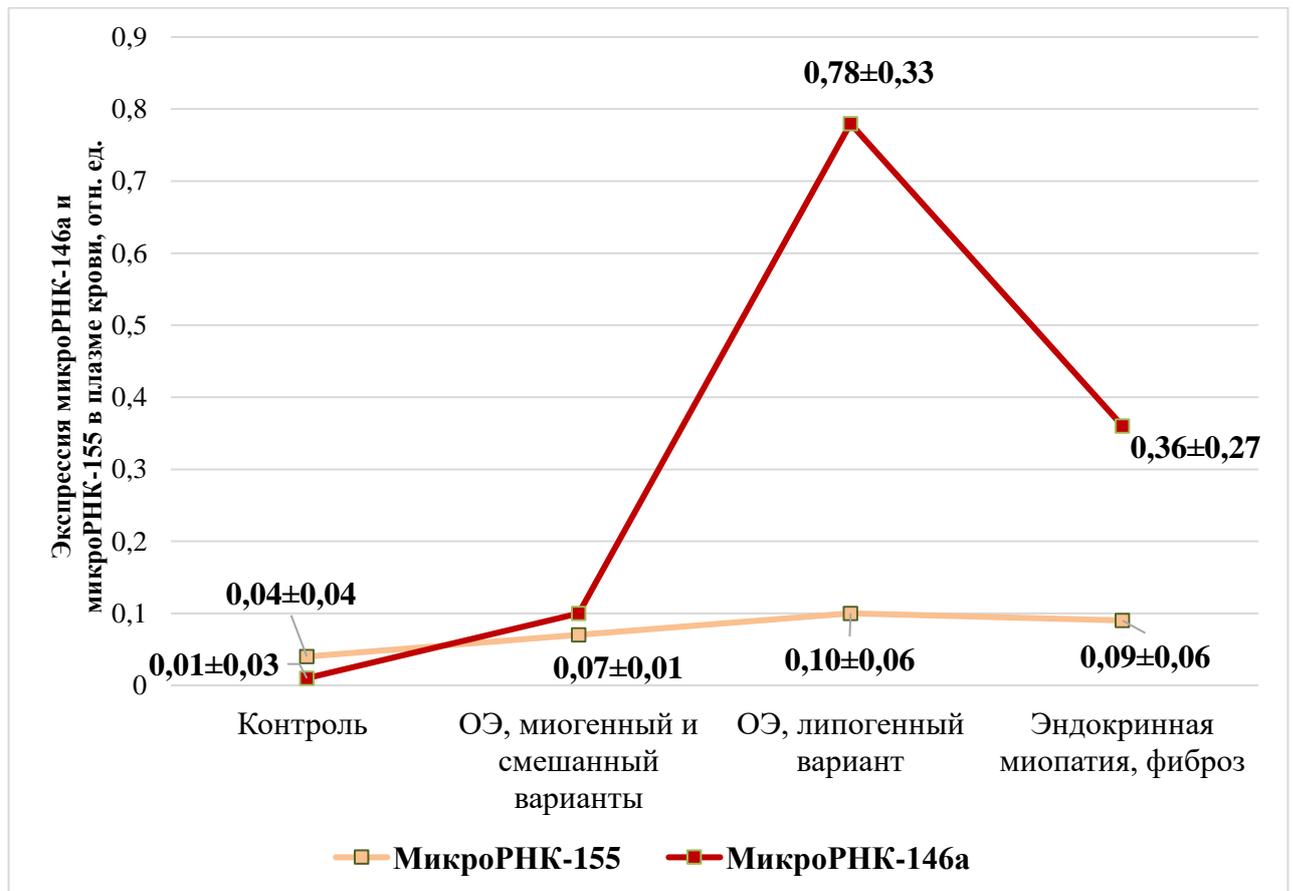


Рисунок 22. Экспрессия микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови у больных ЭОП, резистентных к ГКТ

Результаты нашего исследования указывают на более активную экспрессию у больных липогенным вариантом ОЭ (превышение уровня экспрессии микроРНК-146а в 57,89 раз по сравнению с контрольной группой).

Такое же превышение экспрессии отмечено и у больных эндокринной миопатией с длительностью анамнеза заболевания $7,8 \pm 2,1$ мес. (уровень экспрессии микроРНК-146а больше в 26,51 раза по сравнению с контролем).

А в группе больных с миогенным и смешанным вариантом ОЭ уровень экспрессии микроРНК-146а превышал всего в 8,5 раз.

Ввиду малого объема выборки в исследуемых группах, мы провели попарное сравнение результатов экспрессии микроРНК-146а между группами, которое показало статистически значимые различия в группе больных липогенным ОЭ, миогенным и смешанным вариантами ОЭ ($p=0,0014$).

Уровень экспрессии микроРНК-155 в плазме крови у больных тех же групп значительно меньше, чем при микроРНК-146а, однако закономерность распределения та же: у больных липогенным ОЭ и эндокринной миопатией с компенсированными клиническими симптомами уровень экспрессии микроРНК-155 повышен соответственно в 2,5 и 2,3 раза, а пациенты с миогенным и смешанным вариантом ОЭ имели уровень превышения экспрессии всего в 1,77 раза ($p>0,05$).

Подобное неравномерное распределение исследуемых микроРНК позволяет объяснить их ключевую роль патогенезе ЭОП и формировании ответа на ГКТ. Это объясняется тем, что микроРНК-146а и микроРНК-155 – многофункциональные гены с характерной регуляцией, но условия меняют их функции: они могут регулировать пролиферацию клеток, их дифференцировку или усиливать апоптоз [62].

МикроРНК-146а, несмотря на снижение воспалительного ответа посредством подавления активации Т-лимфоцитов, также способствуют пролиферации фибробластов, приводя к формированию фиброза мягких тканей орбиты [67]. Однако повышенная экспрессия микроРНК-146а в плазме крови способствует дифференцировке орбитальных фибробластов с преобразованием их в пре- и зрелые адипоциты, увеличивая в объеме орбитальную клетчатку [141].

МикроРНК-155, наоборот, активирует синтез Т-лимфоцитов, вызывая повышение воспалительного ответа, и подавляют дифференцировку адипоцитов орбитальной клетчатки [62, 67].

С учетом показателей чувствительности и специфичности определения показателей уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови нами была проведена оценка прогностической ценности их влияния на формирование резистентности к ГКТ у больных ЭОП (Рисунок 23).

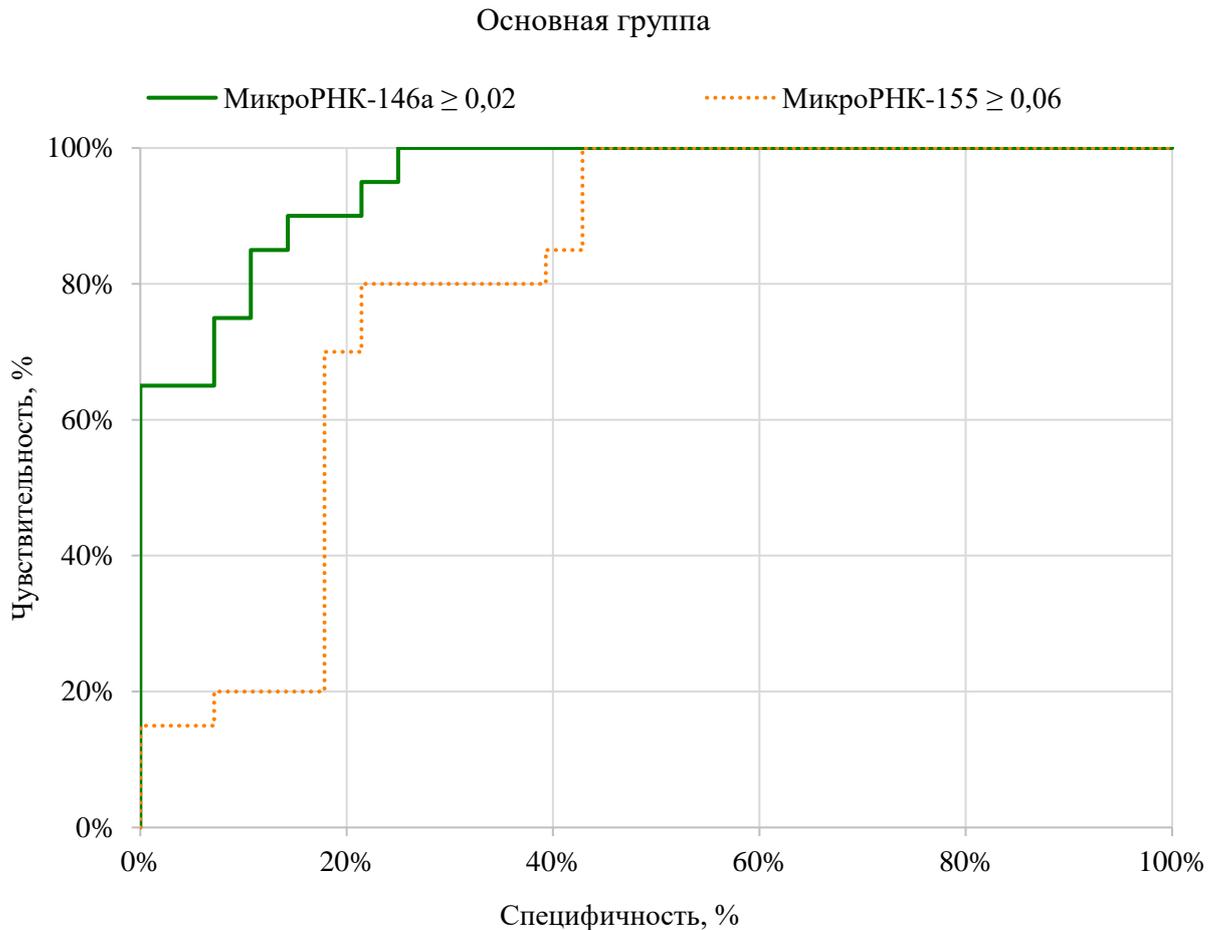


Рисунок 23. Прогностическая ценность оценки уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 для прогнозирования эффективности ГКТ

Как следует из Рисунка 23, показатели уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови могут быть использованы в качестве критериев прогнозирования эффективности ГКТ у больных ЭОП.

Таким образом, повышенный уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови можно расценивать, как биомаркеры аутоиммунного воспаления в мягких тканях орбиты у больных ЭОП. В то же время корреляция

уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 с клинической симптоматикой, монотонностью течения патологического процесса у больных липогенным вариантом ОЭ позволяет сделать вывод, что указанные микроРНК, активизируя пролиферацию фибробластов, принимают участие в увеличении массы орбитальной клетчатки и являются биомаркерами этой клинической формы ОЭ. Есть основание полагать, что именно эта особенность и приводит к формированию отрицательного ГК ответа у таких больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вопросы поздней диагностики, ошибок в определении клинической формы заболевания и, как следствие, выбора неадекватного метода лечения до настоящего времени остаются актуальной проблемой ЭОП, что свидетельствует о необходимости усовершенствования алгоритма диагностики и лечения данной патологии.

Поставлена цель – определить критерии прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии эндокринной офтальмопатии на основе клинического исследования и генетического тестирования и соответствующие ей задачи исследования.

Проведено обследование 75 больных (150 орбит) разными клиническими формами ЭОП в возрасте от 27 до 84 лет, получавшие глюкокортикоидную терапию.

У 23 больных (46 орбит) оценка состояния клинической картины до ГК терапии, проведенной по месту жительства, проведена ретроспективно по медицинской документации.

Для оценки уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в основную группу исследования вошли 20 больных (40 орбит) разными клиническими формами ЭОП, резистентных к ГК; контрольную группу составили 28 волонтеров, не имеющих аутоиммунных и опухолевых заболеваний.

В соответствии с поставленной целью и задачами были выделены основные этапы исследования: изучение эффективности глюкокортикоидной терапии у больных ЭОП с учетом клинической формы и длительности анамнеза заболевания; генотипирование больных по полиморфизму rs6190 гена *NR3C1*, С>Т intron 6 гена *CYP3A4*, А6986G гена *CYP3A5*, определение уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови. В ходе исследования уделялось особое внимание роли длительности анамнеза заболевания до начала проведения ГКТ.

При изучении клинического течения разных форм ЭОП выявлены некоторые особенности: длительность анамнеза заболевания до начала ГКТ у больных миогенным и смешанным вариантами ОЭ, активной эндокринной миопатии соот-

ветствовала стадии активной клеточной инфильтрации ЭОМ и орбитальной клетчатки ($7,3 \pm 3,4$, $7,6 \pm 3,8$ и $4,4 \pm 1,5$ месяцев, соответственно), что и определяло положительный эффект от ГКТ у данных больных. Клинически положительный ответ на ГКТ подтвержден статистически достоверным уменьшением степени экзофтальма и толщины ЭОМ, в большей степени верхней и нижней прямой мышц после ее проведения ($p < 0,05$).

Пациенты липогенным вариантом ОЭ составили отдельную группу стероидорезистентных больных независимо от длительности анамнеза заболевания, что обусловлено особенностью патогенеза патологического процесса: клинические симптомы формируются в результате увеличения массы орбитальной клетчатки на фоне ремоделирования фибробластов под контролем микроРНК, и в первую очередь микроРНК-146.

У больных эндокринной миопатией с длительным анамнезом заболевания ($7,8 \pm 2,1$ месяцев) отсутствие действия ГК можно объяснить формированием к этому времени в экстраокулярных мышцах фиброза.

Анализ ассоциации генотипов rs6190 гена *NR3C1*, A6986G гена *CYP3A5*, C>T intron 6 гена *CYP3A4* с ответом на ГКТ не выявил статистически значимых различий в распределении носителей гомо- и гетерозиготных генотипов полиморфизма данных генов и их влияние на глюкокортикоидный ответ у больных ЭОП ($p > 0,05$).

Оценка уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови доказала статистически достоверное увеличение их экспрессии у больных ЭОП, резистентных к ГКТ ($p < 0,0001$).

Повышенный уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови можно расценивать, как биомаркеры аутоиммунного воспаления в мягких тканях орбиты у больных ЭОП. Соотношение уровня экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 с клинической симптоматикой, монотонностью течения патологического процесса у больных липогенным вариантом ОЭ позволяет сделать вывод, что указанные микроРНК, активизируя пролиферацию фибробластов, принимают участие в увеличении массы орбитальной клетчатки и являются био-

маркерами этой клинической формы ОЭ. Есть основание полагать, что именно эта особенность и приводит к формированию отрицательного ГК ответа у таких больных.

Таким образом, полученные результаты исследования позволяют использовать клинико-диагностические критерии (клиническая форма ЭОП, длительность анамнеза, повышенный уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155) для уточнения показаний и прогноза эффективности ГКТ у больных ЭОП.

ВЫВОДЫ

1. Изучение эффективности глюкокортикоидной терапии подтверждает целесообразность выделения клинических форм ЭОП: отечный экзофтальм и эндокринная миопатия.

2. Подтверждена связь положительного ответа на глюкокортикоидную терапию с длительностью заболевания в каждой из клинических форм: миогенный вариант отечного экзофтальма при длительности заболевания $7,2 \pm 2,8$ месяцев – 81% положительный ответ, смешанный вариант отечного экзофтальма при длительности заболевания $6,4 \pm 3,4$ месяцев – 58,3%, эндокринная миопатия при длительности заболевания $4,2 \pm 1,2$ месяцев – 75%. Доказано отсутствие ответа на глюкокортикоидную терапию (100%) у больных липогенным вариантом отечного экзофтальма независимо от длительности анамнеза.

3. Установлено отсутствие влияния генотипа полиморфных маркеров rs6190 гена *NR3C1*, C>T intron 6 rs35599367 гена *CYP3A4*, A6986G гена *CYP3A5* на эффективность глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией ($p=0,2432$; $p=0,7387$; $p=0,9391$).

4. Доказано, что повышенная экспрессия микроРНК-146а ($0,40 \pm 0,39$ отн. ед.) и микроРНК-155 ($0,08 \pm 0,05$ отн. ед.) оказывает влияние на формирование стероидорезистентности у больных отечным экзофтальмом и эндокринной миопатией ($p < 0,0001$).

5. Установлено, что длительность анамнеза отечного экзофтальма и эндокринной миопатии, а также показатели экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 могут быть использованы в качестве критериев прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии у больных эндокринной офтальмопатией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

У больных эндокринной офтальмопатией до начала проведения глюкокортикоидной терапии необходимо учитывать клинико-диагностические показатели – клиническую форму и длительность анамнеза заболевания, уровень экспрессии микроРНК-146а и микроРНК-155 в плазме крови, что позволит разработать персонализированный подход в лечении данной патологии.

Больным липогенным вариантом отечного экзофтальма глюкокортикоидная терапия не показана. Патогенетическим лечением остается хирургическое удаление избытка орбитальной клетчатки.

Больным эндокринной миопатией при длительности анамнеза более 5 месяцев возможности глюкокортикоидной терапии ограничены в связи с ранним развитием фиброза. Решение о ее назначении следует принимать персонализировано, принимая во внимание индивидуальные особенности клинической картины и результаты эпигенетического исследования.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГАГ	– гликозоминогликаны
ГК	– глюкокортикоиды
ГКТ	– глюкокортикоидная терапия
ДЗН	– диск зрительного нерва
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТЗ	– диффузный токсический зоб
КТ	– компьютерная томография
ОЭ	– отечный экзофтальм
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
рГК	– глюкокортикоидный рецептор
РНК	– рибонуклеиновая кислота
ЭДТА	– этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭМ	– эндокринная миопатия
ЭОМ	– экстраокулярные мышцы
ЭОП	– эндокринная офтальмопатия
ЩЖ	– щитовидная железа
CAS	– clinical activity score
SNP	– single nucleotide polymorphism

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов В. С. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко, М. В. Асеев. – СПб.: Интермедика, 2000. – 272 с.
2. Бочков Н. П. Генетические подходы к оценке безопасности и эффективности лекарственных средств / Н. П. Бочков // Клинические исследования лекарственных средств в России. – 2002. – № 2. – С. 4–6.
3. Бровкина А. Ф. Новообразования орбиты / А. Ф. Бровкина. – М.: Медицина, 1974. – 256 с.
4. Бровкина А. Ф. Оптическая нейропатия и отёчный экзофтальм: симптом или осложнение? / А. Ф. Бровкина // Офтальмологические ведомости. – 2020. – Т. 13, №1. – С. 71–76.
5. Бровкина А. Ф. Проблемные вопросы эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина // Вестник офтальмологии. – 2008. – №1. – С. 5–7.
6. Бровкина А. Ф. Современные аспекты патогенеза и лечения эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2003. – № 5. – С. 47–55.
7. Бровкина А. Ф. Эндокринная офтальмопатия / А. Ф. Бровкина. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 176 с.
8. Бровкина А. Ф. Эндокринная офтальмопатия: реальность и перспективы / А. Ф. Бровкина / Офтальмологические ведомости. – 2012. – Том V, №2. – С. 31–34.
9. Бровкина А. Ф. Липогенный вариант отечного экзофтальма (клиника, лечение) / А. Ф. Бровкина, А. С. Аубакирова, О. Ю. Яценко, Ш. Мослехи // Вестник офтальмологии. – 2008. – №2. – С. 28–30.
10. Бровкина А. Ф. Эндокринная миопатия – одна из клинических форм эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина, О. Д. Жукова // Практическая медицина. – 2016. – Т.1, №2. – С. 17–21.
11. Бровкина А. Ф. Изменение экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки у больных отечным экзофтальмом в свете компьютерной томографии /

А. Ф. Бровкина, Г. Г. Кармазановский, О. Ю. Яценко // Медицинская визуализация. – 2007. – №6. – С. 32–36.

12. Бровкина А. Ф. Дифференциальная диагностика тиреотоксического и отечного экзофтальма в свете компьютерной томографии / А. Ф. Бровкина, Г. Г. Кармазановский, О. Ю. Яценко, Ш. Мослехи // Офтальмология. – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 45–48.

13. Бровкина А. Ф. Компьютерная томография в диагностике фиброза экстраокулярных мышц орбиты у больных эндокринной офтальмопатией / А. Ф. Бровкина, Г. Г. Кармазановский, О. Ю. Яценко, Ш. Мослехи // Офтальмология. – 2011. – Т. 8, №2. – С. 36–39.

14. Бровкина А. Ф. Классификация эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина, А. С. Стоюхина // Проблемы эндокринологии. – 2006. – Т. 52, №5. – С. 11–14.

15. Бровкина А. Ф. Классификация и клинические особенности эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина, Н. Н. Юровская, А. М. Тютюнникова // Вестник офтальмологии. – 1983. – № 1. – С. 40–43.

16. Бровкина А. Ф. Оценка корреляции данных КТ и УЗИ при исследовании толщины экстраокулярных мышц у больных отечным экзофтальмом / А. Ф. Бровкина, О. Ю. Яценко, Ш. Мослехи [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2008. – Т. 9, №2. – С. 61–62.

17. Бровкина А. Ф. Методика расчета объема орбитальной клетчатки, удаляемой при декомпрессивной операции у больных с эндокринной офтальмопатией / А. Ф. Бровкина, О. Ю. Яценко, А. С. Аубакирова // Вестник офтальмологии. – 2009. – Т. 125, № 3. – С. 24–26.

18. Залевская А. Г. Случай тяжелой офтальмопатии при эутиреозе / А. Г. Залевская, Я. В. Благодосклонная // Проблемы эндокринологии. – 1985. – № 6. – С. 40–41.

19. Залетова Н. К. Генетические факторы, влияющие на эффективность терапии глюкокортикоидами при хронических воспалительных заболеваниях ки-

шечника у детей / Н. К. Залетова, Л. П. Востокова, А. Б. Чухловин [и др.] // Педиатр. – 2015. – Т. 6, № 3. – С. 91–97.

20. Кукес В. Г. Клиническая фармакология / В. Г. Кукес. – М.: ГЭОТАР: Медицина, 2004. – 517 с.

21. Кукес В. Г. Проблемы клинической фармакогенетики на современном этапе / В. Г. Кукес, Д. А. Сычев, Н.А. Гасанов // Клиническая медицина. – 2007. – Т. 85, № 2. – С. 58–63.

22. Меркулов В. М. Рецептор глюкокортикоидов: переход из цитоплазмы в клеточное ядро, хроматиновый и внутриядерный шапероновый циклы / В. М. Меркулов, Н. В. Климова, Т. И. Меркулова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 3. – С. 255–263.

23. Приступа Л. Н. Ген глюкокортикоидного рецептора: структура, полиморфизм и клинические ассоциации / Л. Н. Приступа, В. В. Кмыта, О. В. Савченко // Georgian Medical News. – 2013. – № 6 (219). – С. 53–57.

24. Саакян С. В. Генетические факторы развития резистентности к глюкокортикоидам у больных эндокринной офтальмопатией / С. В. Саакян, Пантелеева О. Г., Батырбекова Ф. Х. [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15, № 33. – С. 18–23.

25. Сычев Д. А. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие / Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, И. В. Игнатъев, В. Г. Кукес; под ред. В. Г. Кукеса, Н. П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 248 с.

26. Abraham-Nordling M. Incidence of hyperthyroidism in Sweden / M. Abraham-Nordling, K. Byström, O. Törring [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2011. – Vol. 165, № 6. – P. 899–905.

27. Alkawas A. A. Orbital steroid injection versus oral steroid therapy in management of thyroid-related ophthalmopathy / A. A. Alkawas, A. M. Hussein, E. A. Shaien // Clin. Exp. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 38, № 7. – P. 692–697.

28. Anderson R. L. Dysthyroid optic neuropathy without extraocular muscle involvement / R. L. Anderson, J. P., Tweeten, J. R. Patrinely [et al.] // Ophthalmic. Surg. – 1989. – Vol. 20, № 8. – P. 568–574.

29. Arora R. Ultrasonic measurements of extraocular muscle thickness in normal Indian population / R. Arora, L. Verma, A. Kumar // *Indian. J. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 38, N. 4. – P. 164–165.
30. Azzalis L. A. Effects of ethanol on CYP2E1 levels and related oxidative stress using a standard balanced diet / L. A. Azzalis, F. L. A. Fonseca, K. A. Simon [et al.] // *Drug. Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 35, № 3. – P. 324–329.
31. Bahn R. S. Clinical review 157: Pathophysiology of Graves ophthalmopathy: the cycle of disease / R. S. Bahn // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88, № 5. – P. 1939–1946.
32. Barnes P. J. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases / P. J. Barnes, I. M. Adcock // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373, № 9678. – P. 1905–1917.
33. Bartalena L. Editorial: glucocorticoids for Graves` ophthalmopathy: how and when / L. Bartalena // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol. 90. – P. 5497–5499.
34. Bartalena L. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves` Orbitopathy Guidelines for the Management of Graves` Orbitopathy / L. Bartalena, L. Baldeschi, K. Boboridis, [et al.] // *Eur. Thyroid. J.* – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 9–26.
35. Bartalena L. European on Graves` Orbitopathy. Efficacy and safety of three different cumulative doses of intravenous methylprednisolone for moderate to severe and active Graves` orbitopathy / L. Bartalena, G. E. Krassas, W. Wiersinga [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, № 12. – P. 4454–4463.
36. Bartalena L. Management of Graves` ophthalmopathy: reality and perspectives / L. Bartalena, A. Pinchera, C. Marcocci // *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. 21, № 2. – P. 168–199.
37. Bartel D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function / D. P. Bartel // *Cell.* – 2004. – Vol. 116, N. 2. – P. 281–297.
38. Bartley G. B. The incidence of Graves ophthalmopathy in Olmsted Minnesota / G. B. Bartley, V. Fatourechi, E. F. Kadrmas [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 1995. – Vol. 120, № 4. – P. 511–517.

39. Baxter J. D. Specific cytoplasmic glucocorticoid hormone receptor hepatoma tissue culture cells / J. D. Baxter, G. M. Tomkins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1971. – Vol. 68, N. 5. – P. 932–937.

40. Beato M. Correlation between glucocorticoid binding to specific liver cytosol receptors and enzyme induction in vivo / M. Beato, M. Kalimi, P. Feigelson // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1972. – Vol. 47, № 6. – P. 1464–1472.

41. Beleslin B. N. Efficacy and safety of combined parenteral and oral steroid therapy in Graves' orbitopathy / B. N. Beleslin, J. Ciric, M. Zarkovic [et al.] // *Hormones (Athens).* – 2014. – Vol. 13, № 2. – P. 222–228.

42. Bray P. J. Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): pathological and in vitro mutations and polymorphisms / P. J. Bray, R. G. Cotton // *Hum. Mutat.* – 2003. – Vol. 21, № 6. – P. 557–568.

43. Brent G. A. Clinical practice. Graves' Disease / G. A. Brent // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358, № 24. – P. 2594–2605.

44. Buck M. L. The cytochrome P450 enzyme system and its effect on drug metabolism / M. L. Buck, D. Pharm // *Pediatric. Pharmacotherapy.* – 1997. – Vol. 3, № 5. – P. 211–216.

45. Burch H. B. Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management / H. B. Burch, L. Wartofsky // *Endocr. Rev.* – 1993. – Vol. 14, № 6. – P. 747–793.

46. Cheng C. J. Canonical and non-canonical barriers facing anti-miR cancer therapeutics / C. J. Cheng, W. M. Saltzman, F. J. Slack // *Curr. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 20, № 29. – P. 3582–3593.

47. Chung C. C. Glucocorticoid receptor gene variant in the 3'untranslated region is associated with multiple measures of blood pressure / C. C. Chung, L. Shimmin, S. Natarajan [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, № 1. – P. 268–276.

48. Danielson P. B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans / P. B. Danielson // *Curr. Drug. Metab.* – 2002. – Vol. 3, № 6. – P. 561–597.

49. De Lange P. Natural variants of the beta-isoform of the human glucocorticoid receptor do not alter sensitivity to glucocorticoids / P. De Lange, J. W. Koper, A. O. Brinkmann [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 153, № 1-2. – P. 163–168.

50. Dolman P. J. Evaluating Graves' orbitopathy / P. J. Dolman // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 26, № 3. – P. 229–248.

51. Evans R. M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily / R. M. Evans // *Science.* – 1988. – Vol. 240, № 4854. – P. 889–895.

52. Evans W. E. Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects / W. E. Evans, H. L. McLeod // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348, № 6. – P. 538–549.

53. Flynt A. S. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity / A. S. Flynt, E. C. Lai // *Nat. Rev. Genet.* – 2008. – Vol. 9, № 11. – P. 831–842.

54. Goh M. S. Orbital decompression in Graves' orbitopathy: efficacy and safety / M. S. Goh, A. A. McNab // *Intern. Med. J.* – 2005. – Vol. 35, № 10. – P. 586–591.

55. Grad I. The glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones / I. Grad, D. Picard // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 275, № 1-2. – P. 2–12.

56. Gross K. L. Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair / K. L. Gross, J. A. Cidlowski // *Trends. Endocrinol. Metab.* – 2008. – Vol. 19, № 9. – P. 331–339.

57. Grzanka A. Molecular mechanism of glucocorticoids and difficult asthma / A. Grzanka, B. Rogala // *Allerg. Asthma. Immunol.* – 2000. – Vol. 5. – P. 247–252.

58. Haarman E. G. Glucocorticoid resistance in childhood leukaemia: mechanisms and modulation / E. G. Haarman, G-J. L. Kaspers, A. J. P. Veerman // *Brit. J. Haematol.* – 2003. – Vol. 120, № 6. – P. 919–929.

59. Heufelder A. E. Retro-orbital autoimmunity / A. E. Heufelder // *Baillieres. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 11, № 3. – P. 499–520.

60. Higgins S. J. Early events in glucocorticoid action Activation of the steroid receptor and its subsequent specific nuclear binding studied in a cell-free system / S. J.

Higgins, G. G. Rousseau, J. D. Baxter, G. M. Tomkins // *J. Biol. Chem.* – 1973. – Vol. 248, № 16. – P. 5866–5872.

61. Hiromatsu Y. Graves' ophthalmopathy: epidemiology and natural history / Y. Hiromatsu, H. Eguchi, J. Tani [et al.] // *Intern. Med.* – 2014. – Vol. 53, № 5. – P. 353–360.

62. Huffaker T. B. Epistasis between microRNAs 155 and 146a during T cell-mediated antitumor immunity / T. B. Huffaker, R. Hu, M. C. Runtsch [et al.] // *Cell Rep.* – 2012. – Vol. 2, № 6. – P. 1697–1709.

63. Ikeda Y. A polymorphism in the promoter region of the glucocorticoid receptor gene is associated with its transcriptional activity / Y. Ikeda, T. Suehiro, S. Tsuzura [et al.] // *Endocr. J.* – 2001. – Vol. 48, № 6. – P. 723–726.

64. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future / M. Ingelman-Sundberg // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 193–200.

65. Ito A. Sex Differences in the Blood Concentration of Tacrolimus in Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis Patients with CYP3A5*3/*3 / A. Ito, Y. Okada, T. Hashita [et al.] // *Biochem. Genet.* – 2017. – Vol. 55, № 3. – P. 268–277.

66. Jang S. Y. MicroRNA-27 inhibits adipogenic differentiation in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy / S. Y. Jang, M. K. Chae, J. H. Lee [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14, № 8. – P. e0221077.

67. Jang S. Y. Role of microRNA-146a in regulation of fibrosis in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy / S. Y. Jang, S. J. Park, M. K. Chae, [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 102, № 3. – P. 407–414.

68. Jewell C. M. Molecular evidence for a link between the N363S glucocorticoid receptor polymorphism and altered gene expression / C.M. Jewell, J.A. Cidlowski // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 92, № 8. – P. 3268–3277.

69. Kahaly G. J. Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in Graves' ophthalmopathy / G. J. Kahaly, S. Pitz, G. Hommel, M. Dittmar // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol. 90, № 9. – P. 5234–5240.

70. Kahaly G. J. Regulatory T-cells in Graves' orbitopathy: baseline findings and immunomodulation by anti-T lymphocyte globulin / G. J. Kahaly, O. Shimony, Y. N. Gellman [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96, № 2. – P. 422–429.

71. Kaijun L. Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy / L. Kaijun, D. Yi, J. Ben-Li, H. Jian-Feng // *Med. Sci. Monit.* – 2014. – Vol. 20. – P. 639–643.

72. Kauppinen-Mäkelin R. High dose intravenous methylprednisolone pulse therapy versus oral prednisone for thyroid-associated ophthalmopathy / R. Kauppinen-Mäkelin, A. Karma, E. Leinonen [et al.] // *Acta. Ophthalmol. Scand.* – 2002. – Vol. 80, № 3. – P. 316–321.

73. Keskin O. Genetic associations of the response to inhaled corticosteroids in children during an asthma exacerbation / O. Keskin, U. Uluca, E. Birben [et al.] // *Pediatr. Allergy. Immunol.* – 2016. – Vol. 27, № 5. – P. 507–513.

74. Khong J. J. Pathogenesis of thyroid eye disease: review and update on molecular mechanisms / J. J. Khong, A. A. McNab, P. R. Ebeling [et al.]. – DOI 10.1136/bjophthalmol-2015-307399 // *Br. J. Ophthalmol.* – 2016. – № 100 (1). – P. 142–150.

75. Khoo T. K. Evidence for enhanced Thy-1 (CD90) expression in orbital fibroblasts of patients with Graves' ophthalmopathy / T. K. Khoo, M. J. Coenen, A. R. Schiefer [et al.] // *Thyroid.* – 2008. – Vol. 18, № 12. – P. 1291–1296.

76. Koumas L. Thy-1 expression in human fibroblast subsets defines myofibroblastic or lipofibroblastic phenotypes / L. Koumas, T. J. Smith, S. Feldon [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2003. – Vol. 163, № 4. – P. 1291–1300.

77. Kuehl P. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression / P. Kuehl, J. Zhang, Y. Lin [et al.] // *Nat. Genet.* – 2001. – Vol. 27, № 4. – P. 383–391.

78. Łacheta D. Immunological Aspects of Graves' Ophthalmopathy / D. Łacheta, P. Miśkiewicz, A. Głuszko [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2019. – Vol. 5. – P. 1–12.

79. Lane S. Mechanisms of corticosteroid resistance in asthmatic patients / S. Lane, T. Lee // *Int. Arch. Allergy. Immunol.* – 1997. – Vol. 113, № 1-3. – P. 193–195.

80. Lehmann G. M. Regulation of Lymphocyte Function by PPARgamma: Relevance to Thyroid Eye Disease-Related Inflammation / G. M. Lehmann, T. M. Garcia-Bates, T. J. Smith [et al.] // *PPAR Res.* – 2008. – Vol. 2008. – P. 895–901.

81. Lei S.-F. Polymorphisms of four bone mineral density candidate genes in Chinese populations and comparison with other populations of different ethnicity / S.-F. Lei, F.-Y. Deng, X.-H. Liu [et al.] [et al.] // *J. Bone. Miner. Metab.* – 2003. – Vol. 21, № 1. – P. 34–42.

82. Li H. Independent adipogenic and contractile properties of fibroblasts in Graves' orbitopathy: an in vitro model for the evaluation of treatments / H. Li, C. Fitchett, K. Kozdon [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. № 94. – P. e95586.

83. Li Z. Thyroid eye disease: what is new to know? / Z. Li, D. M. Cestari, E. Fortin // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 29, № 6. – P. 528–534.

84. Liang C. Expression levels and genetic polymorphisms of interleukin-2 and interleukin-10 as biomarkers of Graves' disease / C. Liang, W. Du, Q. Dong, [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – Vol. 9, № 3. – P. 925–930.

85. Lin R. C. High penetrance, overweight, and glucocorticoid receptor variant: case-control study / R. C. Lin, W. Y. Wang, B. J. Morris // *BMJ.* – 1999. – Vol. 319, № 7221. – P. 1337–1338.

86. Lookoff F. W. Pharmacogenetic considerations in the treatment of psychiatric disorders / F. W. Lookoff, T. N. Ferraro // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2010. – Vol. 11, № 3. – P. 423–439.

87. Macchia P. E. High-dose intravenous corticosteroid therapy for Graves' ophthalmopathy / P. E. Macchia, M. Bagattini, G. Lupoli [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2001. – Vol. 24, № 3. – P. 152–158.

88. Marcocci C. Comparison of the effectiveness and tolerability of intravenous or oral glucocorticoids associated with orbital radiotherapy in the management of severe Graves' ophthalmopathy: results of a prospective, single-blind, randomized study / C. Marcocci, L. Bartalena, M. L. Tanda [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86, № 8. – P. 3562–3567.

89. Molnár Á. An unexpected, mild phenotype of glucocorticoid resistance associated with glucocorticoid receptor gene mutation case report and review of the literature / Á. Molnár, A. Patócs, I. Likó [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2018. – Vol. 19, № 1. – P. 37–42.

90. Mou P. Common Immunosuppressive Monotherapy for Graves' Ophthalmopathy: A Meta-Analysis / P. Mou, Li-H. Jiang, Y. Zhang [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 10. – P.1–14.

91. Mourits M. P. Clinical activity score as a guide in the management of patients with Graves' ophthalmopathy / M. P. Mourits, M. F. Prummel, W. M. Wiersinga, L. Koornneef // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. – 1997. – Vol. 47, № 1. – P. 9–14.

92. Munck A. Glucocorticoid receptors and physiology: a personal history / A. Munck // *Steroids.* – 2005. – Vol. 70, № 4. – P. 335–344.

93. Murai T. The inhaled glucocorticoid fluticasone propionate efficiently inactivates cytochrome P450 3A5, a predominant lung P450 enzyme / T. Murai, C. A. Reilly, R. M. Ward, G. S. Yost // *Chem. Res. Toxicol.* – 2010. – Vol. 23, № 8. – P. 1356–1364.

94. Mysliwiec J. Serum interleukin-16 and RANTES during treatment of Graves' orbitopathy with corticosteroids and teleradiotherapy / J. Mysliwiec, I. Palyga, A. Nikolajuk [et al.] // *Endokrynol. Pol.* – 2012. – Vol. 63, № 2. – P. 92–96.

95. Nagayama Y. Treatment of Graves' ophthalmopathy with high-dose intravenous methylprednisolone pulse therapy / Y. Nagayama, M. Izumi, T. Kiriyaama [et al.] // *Acta Endocrinol. (Copenh.)*. – 1987. – Vol. 116, № 4. – P. 513–518.

96. Nakasa T. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue / T. Nakasa, S. Miyaki, A. Okubo [et al.] // *Arthritis. Rheum.* – 2008. – Vol. 58, № 5. – P. 1284–1292.

97. Neeck G. Fifty years of experience with cortisone therapy in the study and treatment of rheumatoid arthritis / G. Neeck // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 966, № – P. 28–38.

98. Oakley R. H. The Biology of the Glucocorticoid Receptor: New Signaling Mechanisms in Health and Disease / R. H. Oakley, J. A. Cidlowski // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 132, № 5. – P. 1033–1044.

99. Orlovsky M. A. Allelic polymorphism of glucocorticoid receptor NR3C1 (GR): from molecular biology to clinical implications / M. A. Orlovsky // *Biopolymers and Cell.* – 2012. – Vol. 28, № 5. – P. 338–351.

100. Panek M. The analysis of the factors influencing the development of glucocorticoid resistance in the etiopathogenesis of severe bronchial asthma / M. Panek, T. Pietras, I. Kupryś-Lipińska [et al.] // *Postepy. Biochem.* – 2010. – Vol. 56, № 4. – P. 373–382.

101. Penta L. Corticosteroids in Moderate-To-Severe Graves' Ophthalmopathy: Oral or Intravenous Therapy? / L. Penta, G., Muzi, M. Cofini [et al.] // *Int J Environ Res Public Health.* – 2019. – Vol. 16, № 1. – P. 155–160.

102. Pérez-Moreiras J. V. Treatment of active corticosteroid-resistant graves 'orbitopathy / J. V. Pérez-Moreiras, A. Alvarez-López, E. C. Gómez // *Ophthalmic. Plast. Reconstr. Surg.* – 2014. – Vol. 30, № 2. – P. 162–167.

103. Perros P. Age and gender influence the severity of thyroid-associated ophthalmopathy: a study of 101 patients attending a combined thyroid-eye clinic / P. Perros, A. L. Crombie, J. N. Matthews, P. Kendall-Taylor // *Clin. Endocrinol. (Oxf.).* – 1993. – Vol. 38, № 4. – P. 367–372.

104. Perros P. Graves' orbitopathy as a rare disease in Europe: a European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) position statement / P. Perros, Hegedüs, L. Bartalena [et al.] // *Orphanet. J. Rare. Dis.* – 2017. – Vol. 12, № 1. – P. 72–74.

105. Perros P. Thyroid eye disease / P. Perros, C. Neoh, J. Dickinson // *BMJ.* – 2009. – Vol. 338. – b560.

106. Pratt W. B. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones / W. B. Pratt, D. O. Toft // *Endocr. Rev.* – 1997. – Vol. 18, № 3. – P. 306–360.

107. Prummel M. F. Multi-center study on the characteristics and treatment strategies of patients with Graves' orbitopathy: The first European group on Graves' orbitopathy experience / M. F. Prummel, A. Bakker, W. M. Wiersinga [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 148, № 5. – P. 491–495.

108. Pinchera A. Orbital cobalt radiotherapy and systemic or retrobulbar corticosteroids for Graves' ophthalmopathy / A. Pinchera, C. Marcocci, L. Bartalena [et al.] // *Horm. Res.* – 1987. – Vol. 26, № 1-4. – P. 177–183.

109. Quax R. A. M. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and in the glucocorticoid-induced transcript 1 gene are associated with disease activity and response to glucocorticoid bridging therapy in rheumatoid arthritis / R. A. M. Quax, J. W. Koper, A. M. Huisman [et al.] // *Rheumatol. Int.* – 2015. – Vol. 35, № 8. – P. 1325–1333.

110. Readman A. Implications of cytochrome P450 2C9 polymorphism on warfarin metabolism and dosing / A. Readman // *Pharmacotherapy.* – 2001. – Vol. 21, № 2. – P. 235–241.

111. Rhen T. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs / T. Rhen, J. A. Cidlowski // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, № 16. – P. 1711–1723.

112. Romero-Kusabara I. L. Distinct inflammatory gene expression in extraocular muscle and fat from patients with Graves' orbitopathy / I. L. Romero-Kusabara, J. V. Filho, N. M. Scalissi [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 176, № 4. – P. 481–488.

113. Rousseau G. G. Binding of glucocorticoid receptors to DNA / G. G. Rousseau, S. J. Higgins, J. D. Baxter [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1975. – Vol. 250, № 15. – P. 6015–6021.

114. Roy A. Efficacy and safety of low dose oral prednisolone as compared to pulse intravenous methylprednisolone in managing moderate severe Graves' orbitopathy: A randomized controlled trial / A. Roy, D. Dutta, S. Ghosh [et al.] // *Indian. J. Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol. 19, № 3. – P. 351–358.

115. Shen L. Circulating microRNA predicts insensitivity to glucocorticoid therapy in Graves' ophthalmopathy / L. Shen, F. Huang, L. Ye [et al.] // *Endocrine.* – 2015. – Vol. 49, № 2. – P. 445–456.

116. Simons S. S. Jr. Interaction of glucocorticoid receptor-steroid complexes with acceptor sites / S. S. Simons Jr., H. M. Martinez, R. L. Garcea [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1976. – Vol. 251, № 2. – P. 334–343.

117. Smith T. J. Pathogenesis of Graves' orbitopathy: A 2010 update / T. J. Smith // *J. Endocrinol. Invest.* – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 414–421.

118. Smith T. J. TSH-receptor-expressing fibrocytes and thyroid-associated ophthalmopathy / T. J. Smith // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 11, № 3. – P. 171–181.

119. Smith T. J. Unique attributes of orbital fibroblasts and global alterations in IGF-1 receptor signaling could explain thyroid-associated ophthalmopathy / T. J. Smith, C. C. Tsai, Mei-J. Shih [et al.] // *Thyroid.* – 2008. – Vol. 18, № 9. – P. 983–988.

120. Steel D. H. Uniocular fields of fixation in thyroid eye disease / D. H. Steel, H. B. Hoh, M. Poots, R. A. Harrad // *Eye (Lond).* – 1995. – Vol. 9, № 3. – P. 348–351.

121. Stein J. D. Risk factors for developing thyroid-associated ophthalmopathy among individuals with Graves' disease / J. D. Stein, D. Childers, S. Gupta [et al.] // *JAMA Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 133, № 3. – P. 290–296.

122. Stiebel-Kalish H. Treatment modalities for Graves' ophthalmopathy: systematic review and meta-analysis / H. Stiebel-Kalish, E. Robenshtok, M. Hasanreisoglu [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, № 8. – P. 2708–2716.

123. Stockmann C. Fluticasone propionate pharmacogenetics: CYP3A4*22 polymorphism and pediatric asthma control / C. Stockmann, B. Fassl, R. Gaedigk, [et al.] // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 162, № 6. – P. 1222–1227.

124. Strickland I. High constitutive glucocorticoid receptor beta in human neutrophils enables them to reduce their spontaneous rate of cell death in response to corticosteroids / I. Strickland, K. Kisich, P. J. Hauk [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2001. – Vol. 193, № 5. – P. 585–593.

125. Sychev D. A. The cytochrome P450 isoenzyme and some new opportunities for the prediction of negative drug interaction in vivo / D. A. Sychev, G. Md. Ashraf, A. A. Svistunov [et al.] // *Drug. Des. Devel. Ther.* – 2018. – Vol. 12. – P. 1147–1156.

126. Tachibana S. Orbital magnetic resonance imaging combined with clinical activity score can improve the sensitivity of detection of disease activity and prediction of response to immunosuppressive therapy for Graves' ophthalmopathy / S. Tachibana, T. Murakami, H. Noguchi [et al.] // *Endocr. J.* – 2010. – Vol. 57, № 10. – P. 853–861.

127. Takahashi H. Pharmacogenetics of warfarin elimination and its clinical implications / H. Takahashi, H. Echizen // *Clin. Pharmacokinet.* – 2001. – Vol. 40, № 8. – P. 587–603.

128. Tanda M. L. Prevalence and natural history of Graves' orbitopathy in a large series of patients with newly diagnosed Graves' hyperthyroidism seen at a single center / M. L. Tanda, E. Piantanida, L. Liparulo [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, № 4. – P. 1443–1449.

129. Tang Y. MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins / Y. Tang, X. Luo, H. Cui [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol. 60, № 4. – P. 1065–1075.

130. Tatulashvili S. New perspectives for the diagnosis and prognosis of Graves' disease / S. Tatulashvili, C. Baudry, J. L. Sadoul, H. Bihan // *Ann. Endocrinol. (Paris)*. – 2018. – Vol. 79, № 1. – P. 31–39.

131. Teeninga N. Population Pharmacokinetics of Prednisolone in Relation to Clinical Outcome in Children with Nephrotic Syndrome / N. Teeninga, Z. Guan, J. Stevens [et al.] // *Ther. Drug. Monit.* – 2016. – Vol. 38, № 4. – P. 534–545.

132. Tompkins L. M. Mechanisms of cytochrome P450 induction / L. M. Tompkins, A. D. Wallace // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 176–181.

133. Tong B.-D. MiRNA-21 promotes fibrosis in orbital fibroblasts from thyroid-associated ophthalmopathy / B.-D. Tong, M.-Y. Xiao, J.-X. Zeng, W. Xiong // *Mol Vis.* – 2015. – Vol. 21. – P. 324–334.

134. Träisk F. Thyroid Study Group of TT 96. Thyroid-associated ophthalmopathy after treatment for Graves' hyperthyroidism with antithyroid drugs or iodine-131 / F. Träisk, L. Tallstedt, Abraham-Nordling M. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, № 10. – P. 3700–3707.

135. Tsui S. Divergent Sp1 levels may underlie differential expression of UDP glucose dehydrogenase by fibroblasts: Role in susceptibility to orbital Graves' disease / S. Tsui, R. Fernando, B. Chen, T. J. Smith // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286, № 27. – P. 24487–24499.

136. Turck N. Thyroid-Associated Orbitopathy and Biomarkers: Where We Are and What We Can Hope for the Future / N. Turck, S. Eperon, G. De Los Angeles [et al.] // *Dis. Markers.* – 2018. – № 2018. – P. 7010196.

137. Turner J. D. Transcriptional control of the glucocorticoid receptor: Cp Gb islands, epigenetic sandmore / J. D. Turner, S. R. Alt, L. Cao [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2010. – Vol. 80, № 12. – P. 1860–1868.

138. Van Rossum E. F. C. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels / E. F. C. Van Rossum, J. W. Koper, N. A. T. M. Huizenga [et al.] // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51, № 10. – P. 3128–3134.

139. Van Rossum E. F., Lamberts S. W. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition / E. F. Van Rossum, S. W. Lamberts // *Recent. Prog. Horm. Res.* – 2004. – Vol. 59. – P. 333–357.

140. Vannucchi G. The therapeutic outcomes of intravenous steroids therapy for active Graves orbitopathy is influenced by the time of response but not polymorph of the glucocorticoid receptor / G. Vannucchi, D. Covelli, I. Campi [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 170, № 1. – P. 55–61.

141. Wang N. Mechanism of microrna-146a/notch2 signaling regulating il-6 in Graves ophthalmopathy / N. Wang, F.-E. Chen, Z.-W. Long // *Cell Physiol. Biochem.* – 2017. – Vol. 41. – P. 1285–1297.

142. Wang Y. Current concepts in the molecular pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy / Y. Wang, T. J. Smith // *Invest. Ophthalmology. Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 1735–1748.

143. Wang Y. A single-center retrospective study of factors related to the effects of intravenous glucocorticoid therapy in moderate-to-severe and active thyroid-

associated ophthalmopathy / Y. Wang, S. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *BMC Endocr. Disord.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 13.

144. Weinshilboum R. Inheritance and drug response / R. Weinshilboum // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348, № 6. – P. 529–537.

145. Wiersinga W. M. Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy / W. M. Wiersinga, L. Bartalena // *Thyroid.* – 2002. Vol. 12, № 10. – P. 855–860.

146. Woeller C. F. TSHR Signaling Stimulates Proliferation Through PI3K/Akt and Induction of miR-146a and miR-155 in Thyroid Eye Disease Orbital Fibroblasts / C. F. Woeller, E. Roztocil, C. Hammond, S. E. Feldon // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60, № 13. – P. 4336–4345.

147. Wu F. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha / F. Wu, M. Zikusoka, A. Trindade [et al.] // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 135, № 5. – P. 1624–1635.

148. Yeatts R. P. Quality of life in patients with Graves ophthalmopathy / R. P. Yeatts // *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* – 2005. – Vol. 103. – P. 368–411.

149. Zaletel K. Ten-year follow-up of thyroid epidemiology in Slovenia after increase in salt iodization / K. Zaletel, S. Gaberscek, E. Pirnat // *Croat. Med. J.* – 2011. – Vol. 52. – № 615–621.

150. Zang S. Clinical review: Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: efficacy and morbidity / S. Zang, K. A. Ponto, G. J. Kahaly // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96, № 2. – P. 320–332.

151. Zhu W. A prospective, randomized trial of intravenous glucocorticoids therapy with different protocols for patients with Graves' ophthalmopathy / W. Zhu, L. Ye, L. Shen, Q. Jiao [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99, № 6. – P. 1999–2007.

152. Zuber R. Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism / R. Zuber, E. Anzenbacherová, P. Anzenbacher // *J. Cell. Mol. Med.* – 2002. Vol. 6, № 2. – P. 189–198.