

Исследование антиапоптозного белка Bcl-2 в слезной жидкости и сыворотке крови и его значение для понимания патогенеза и обоснования нейропротекции при первичной открытоугольной глаукоме

О.С. Слепова¹, М.А. Фролов², Н.С. Морозова², А.М. Фролов², Дж.Н. Ловпаче¹

¹ ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России

² Российский Университет Дружбы Народов, Москва

Статья посвящена исследованию роли антиапоптозного белка Bcl-2 в патогенезе глаукоматозной оптической нейропатии. Изучены содержание растворимой формы Bcl-2 в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) у пациентов с подозрением на глаукому и разными стадиями первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) и их соотношение с клиническими показателями (периметрия, HRT и др.) до и после лечения ноотропным препаратом цитиколином (системно). Получены данные, свидетельствующие о прогностической информативности определения уровней Bcl-2 в СЖ и в СК, которые могут служить лабораторным индикатором состояния системы, участвующей в негативной регуляции апоптоза. Отсутствие белка Bcl-2 в СЖ и низкое его содержание в СК ассоциировались с ухудшением показателей периметрии (индексы MS, MD) и ретиноматографии (RNFL). Установлено, что парентеральное применение цитиколина способствует прогностически благоприятному подъему уровней Bcl-2 как в СК, так и в СЖ, что коррелировало с улучшением светочувствительности сетчатки (повышение MS) и уменьшением площади скотом (снижение MD). Терапевтическое действие препарата зависит от фоновых уровней Bcl-2 и наиболее выражено при исходном «дефиците» его в СЖ.

Ключевые слова: глаукома, апоптоз, Bcl-2, цитиколин, слезная жидкость, сыворотка крови, ретиноматография, периметрия.

Российский офтальмологический журнал 2013; 1:32–37

В последнее десятилетие внимание исследователей, занимающихся изучением патогенеза оптической нейропатии при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ), привлекают процессы апоптоза (запрограммированной гибели клеток), которые могут быть обусловлены как закономерными инволюционными изменениями в организме, так и быть следствием неблагоприятных внешних или внутренних воздействий [15, 27, 35]. Показано, что

при ПОУГ нарушение этого процесса может иметь место на уровне нейронов сетчатки, а также клеток периферической крови [21].

Разработка данного аспекта проблемы имеет не только научное, но и практическое значение, связанное с обоснованием и применением нейропротекции [29, 43]. В наших собственных исследованиях достичь улучшения периметрических показателей (индексы MS и MD) у больных с I–III стадиями ПОУГ

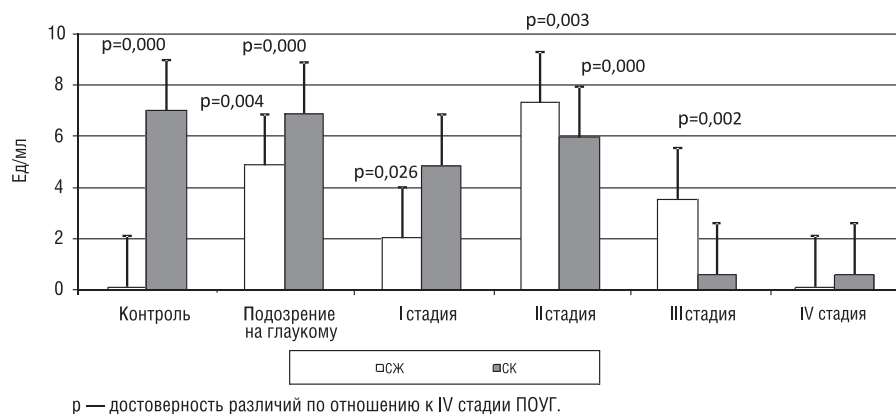


Рис. 1. Содержание белка Bcl-2 в СЖ и СК пациентов с разными стадиями ПОУГ.

удалось с помощью цитиколина [7], что подтверждает данные других авторов о положительном эффекте этого ноотропного препарата [24, 37, 39]. Следует подчеркнуть, что наблюдавшееся нами терапевтическое действие цитиколина сочеталось с коррекцией исходно нарушенного при ПОУГ физиологического равновесия между sFas/Apo-1 (один из мембранных клеточных рецепторов, ответственный за контролируемый тканевой гомеостаз и иммунный ответ) и его лигандом sFasL (основной индуктор апоптотической гибели клетки) [3–5].

Известно, что в процессе апоптоза наряду с sFas/Apo-1 и sFasL участвует целый комплекс факторов, как обладающих апоптогенным потенциалом, так и их антагонистов. Наше внимание привлек Bcl-2, который является внутриклеточным мембраносвязанным белком, блокирующим программированную клеточную гибель. Ген Bcl-2 выполняет функцию негативного регулятора апоптоза. Установлено, что снижение концентрации Bcl-2 приводит к апоптотической гибели клеток, тогда как сверхэкспрессия его защищает клетки от смерти [16, 38, 40].

В офтальмологии этот белок изучался в основном с помощью иммуногистохимических методов у пациентов с увеальной меланомой [2], а также при увеитах [1] и травмах глаза [41], экспериментально — при морфологических изменениях донорской роговицы [6], амаврозе Лебера [16], при экспериментальной глаукоме [10, 14, 17, 20, 25, 33]. В доступной литературе имеются лишь единичные сообщения об исследовании Bcl-2 у больных с глаукомой (абсолютной) [41]. Работы, посвященные определению Bcl-2 в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) (растворимая форма), в условиях патологии или нормы практически отсутствуют.

ЦЕЛЬ работы: исследование содержания Bcl-2 в слезной жидкости и сыворотке крови у пациентов с различными стадиями ПОУГ, изучение терапевтического и иммунокорректирующего действия цитиколина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 28 пациентов (16 мужчин, 12 женщин) в возрасте от 59 до 75 лет (средний возраст $67 \pm 8,4$ года), из них 2 пациента (4 глаза) с подозрением на глаукому на обоих глазах, 2 (4 глаза) — с подозрением на глаукому на одном глазу и I стадией ПОУГ на другом, 24 — с двусторонней ПОУГ (48 глаз) с компенсированным офтальмотонусом, в том числе с I стадией 8 глаз, со II и III стадиями — по 9 глаз, с IV стадией — 6 глаз. Диагноз ПОУГ подтвержден характерными периметрическими

изменениями и результатами ретиноматографии. Компенсация ВГД была достигнута местной гипотензивной терапией и/или антиглаукоматозным вмешательством. За 1 мес до начала исследования больным исключили из лечения вазоактивные и ноотропные препараты, а также витамины и антиоксиданты. Все пациенты (за исключением 2 человек с подозрением на глаукому на обоих глазах) получали ноотропный препарат цитиколин. Препарат вводился в дозе 500 мг/сут внутривенно в течение 10 дней. Офтальмологическое обследование проводилось в динамике: до назначения и по окончании курса терапии цитиколином, затем в течение года амбулаторного наблюдения. Оно включало визометрию и статическую автоматическую периметрию (периметр «Octopus» 101, Interzeag AG, Швейцария), с помощью которой оценивали динамику изменений поля зрения по двум показателям: общей светочувствительности сетчатки (индекс MS, дБ) и среднему дефекту (индекс MD, дБ). Кроме этого, всем пациентам проводилась ретиноматография на Heigelsberg Retina Tomograph III (HRT III) с оценкой толщины слоя нервных волокон сетчатки (RNFL, мм).

Параллельно с клиническими проводились иммунологические исследования. Bcl-2 определяли в пробах СК и СЖ с помощью иммуноферментного анализа (тест-системы «Bender MedSystems»; Австрия, чувствительность 1 Ед/мл, диапазон измеряемых концентраций — от 0 до 200 Ед/мл). Забор биологического материала осуществляли до лечения и на следующий день после окончания курса терапии цитиколином. Всего исследованы 54 пробы СК (28 до и 26 после лечения) и 100 проб СЖ (56 и 44 соответственно). В качестве контроля, в связи с трудностями подбора здоровых лиц пожилого возраста, исследованы только 2 человека, не имевшие признаков офтальмопатологии или сопутствующих заболеваний (2 пробы СК и 4 пробы СЖ); полученные при этом результаты приведены как ориентировочные.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью программы «Биостатд» (t-критерий Стьюдента, критерии Фишера и χ^2).

Таблица 1. Показатели периметрии (индексы MS и MD) и ретинотомографии (RNFL) при различных уровнях Bcl-2 ($M \pm m$) в СЖ пациентов с ПОУГ

Bcl-2 (Ед/мл)		Число глаз/проб (n=44)	Индекс MS (дБ)	Индекс MD (дБ)	RNFL (мм)
интервалы уровней	средний уровень				
отриц.	< 0,50	8	17,28±0,97	7,47±0,22	0,149±0,01
0,50–1,50	0,97±0,12	10	23,3±0,74 p=0,000	4,48±0,38 p=0,000	0,199±0,006 p=0,000
2,0–6,50	4,37±0,37	12	21,65±0,52 p=0,000	5,87±0,57 p=0,042	0,17±0,007 p=0,045
7,0–10,0	8,05±0,39	8	20,25±1,19	7,45±0,4	0,1663±0,008
12,0–18,0	14,23±1,23	6	20,7±0,38 p=0,013	6,86±0,97	0,1747±0,01 p=0,014

Примечание. p – достоверность различий по сравнению с показателями у больных с отсутствием Bcl-2.

Таблица 2. Показатели периметрии (индексы MS и MD) и ретинотомографии (RNFL) при различных уровнях Bcl-2 в СК пациентов с ПОУГ

Bcl-2 (Ед/мл)		Число проб (n=30)	Индекс MS (дБ)	Индекс MD (дБ)	RNFL (мм)
интервалы уровней	средний уровень				
отрицат.	< 0,50	14	17,37±1,25	7,53±0,63	0,15±0,006
1,80–3,00	2,41±0,32	4	16,85±2,97	6,8±0,4	0,13±0,009
4,50–5,50	5,01±0,23	4	19,95±0,6	7,45±0,43	0,1725±0,002
7,00–9,50	7,77±0,40	8	23,35±0,62 p=0,003	3,6±0,1 p=0,000	0,2117±0,007 p=0,000

Примечание. p – достоверность различий по сравнению с показателями у больных с отсутствием Bcl-2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволяют обсудить несколько вопросов: роль Bcl-2 в патогенезе ПОУГ; информативность исследованных тест-проб (СЖ и СК) и возможности лабораторного прогнозирования течения заболевания; влияние препарата цитиколина (парентерально) на клинко-функциональные параметры в зависимости от содержания Bcl-2 в СЖ и СК.

Сравнительный анализ данных, полученных при исследовании Bcl-2 у больных с разными стадиями ПОУГ (рис. 1), показал, что при подозрении на глаукому отмечалась тенденция к повышению его содержания в СЖ (по сравнению с контролем). Однако на I-й стадии уровни белка в СЖ снижались (по сравнению с подозрением на ПОУГ) и после возвратного их всплеска на II-й стадии, по-видимому, отражавшего противодействие развитию апоптотического процесса, падали до минимума на IV-й стадии. При исследовании СК также отмечалось значительное уменьшение содержания Bcl-2, но только при развитой ПОУГ (III–IV стадии) по сравнению с контролем и ранними стадиями. Таким образом, переход в терминальную стадию заболевания ассоциировался с явным сочетанным (местным и системным) «дефицитом» этого фактора. Индивидуальный анализ подтвердил, что дефицит Bcl-2 в СЖ (6 из 6 случаев; 100%) и в СК (4 из 6 случаев; 67%) был характерен главным образом для больных с IV и в меньшей степени III стадиями ПОУГ (8 из 18 случаев, 44,4% и 2 из 10

случаев, 20% соответственно). При подозрении на глаукому, как и на начальных стадиях ПОУГ (I–II), таких случаев фактически не отмечалось.

Неблагоприятное значение «дефицита» Bcl-2, причем как на локальном, так и на системном уровнях, подтверждалось и результатами периметрии и ретинотомографии перед началом лечения цитиколином. Установлено, что низкий индекс MS (светочувствительность сетчатки) и высокий индекс MD (площадь скотом), а также низкий показатель RNFL (толщина слоя нервных волокон), сочетались с фактическим отсутствием Bcl-2 в СЖ (табл. 1) и в СК (табл. 2). При наличии и особенно при высоком (≥ 7 ед/мл) содержании Bcl-2 в обеих тест-пробах функциональные показатели оказались значительно лучше.

Исходя из выявленных клинко-иммунологических связей,

мы пришли к заключению, что отсутствие Bcl-2 в СЖ и СК (или снижение его уровней в динамике наблюдения) может иметь негативное значение в плане прогноза течения ПОУГ. Это вполне согласуется с общими представлениями о «положительных», антиапоптотических, свойствах этого белка [38, 42, 45].

В целом полученные данные свидетельствуют, что исследование Bcl-2 в СЖ и СК может служить одним из индикаторов развития и прогрессирования ПОУГ, важным для понимания роли апоптотического процесса в патогенезе заболевания. Обнаружено, что ранние стадии заболевания ассоциируются с волнообразными колебаниями уровня этого белка в СЖ при относительно стабильном поддержании его концентрации в СК (на уровне контроля). При этом переход от начальных признаков (подозрение на глаукому – I стадия) к развитой ПОУГ (II стадия) чаще всего связан со значительным подъемом уровня Bcl-2 в СЖ, что, вероятно, обусловлено активацией противоборствующего апоптозу фактора. В литературе имеются данные о том, что «сверхэкспрессия» Bcl-2 защищает клетки от смерти [16, 41, 44]. Усугубление клинической картины ПОУГ характеризовалось сочетанным падением уровней Bcl-2 как в СЖ, так и в СК (до фактического отсутствия).

Представленные данные определяют актуальность разработки подходов к целенаправленному устранению нарушений секреции Bcl-2 как на местном, так и на системном уровнях, индикатором которых может служить содержание его в СЖ и СК.

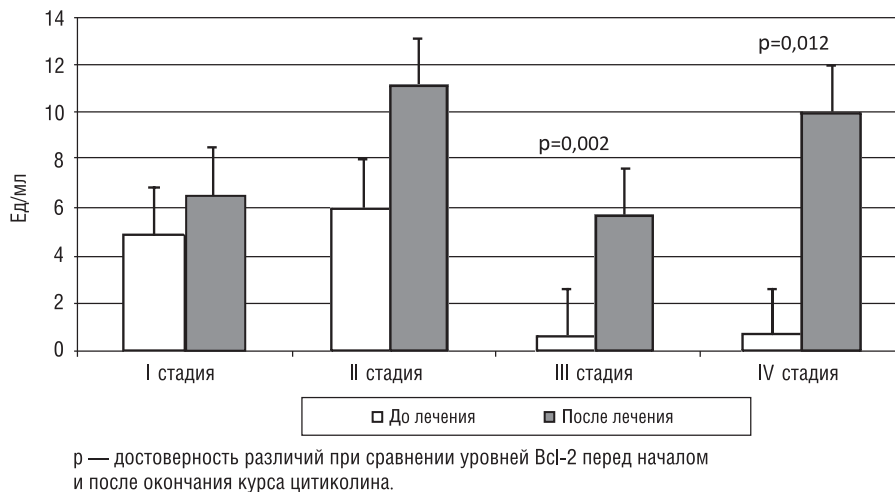


Рис. 2. Изменение уровня Bcl-2 в СК пациентов с разными стадиями ПОУГ на фоне лечения цитиколином.

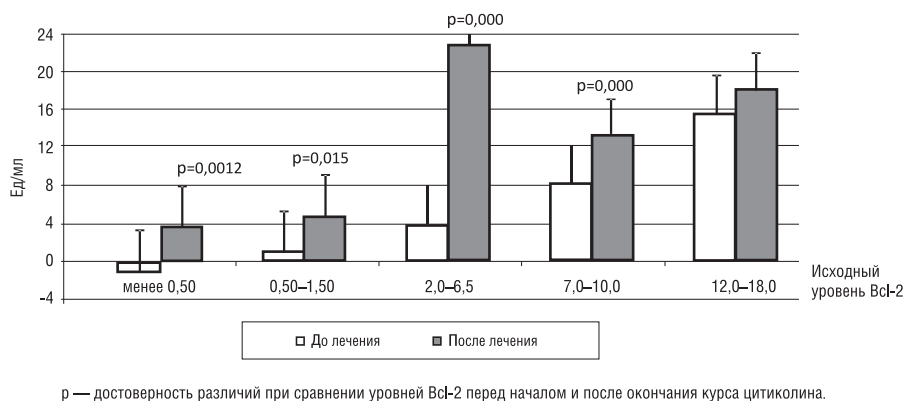


Рис. 3. Изменение уровня Bcl-2 в СЖ пациентов с разными исходными уровнями белка на фоне лечения цитиколином.

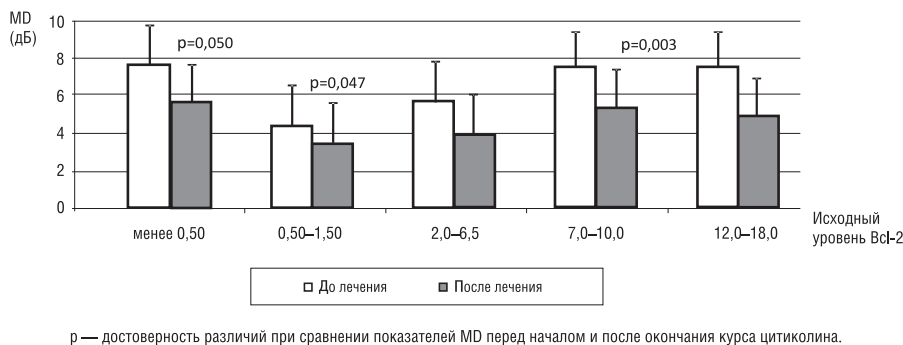


Рис. 4. Изменение периметрического индекса MD при разных исходных уровнях Bcl-2 в СЖ больных ПОУГ на фоне лечения цитиколином.

Изучение возможностей медикаментозного воздействия на этот патогенетически значимый фактор было проведено у больных с I–III/IV стадиями ПОУГ. Обнаружено, что после парентерального курса терапии цитиколином у большинства пациентов возрастало содержание Bcl-2 в СК (в 1,5–18 раз; 10 из 26 случаев; 76,9%) и в СЖ (в 1,3–10 раз; 36 из 44 случаев; 81,8%).

При исследовании СК повышение уровня Bcl-2 после лечения цитиколином отмечалось во всех

клинических подгруппах: 6 из 10 случаев (60%) при I–II стадиях ПОУГ; 14 из 16 (87,5%) при III/IV стадиях. Наиболее явным оно было при развитой ПОУГ (III–IV стадии), для которой, как отмечалось выше, характерен системный «дефицит» Bcl-2 (рис. 2).

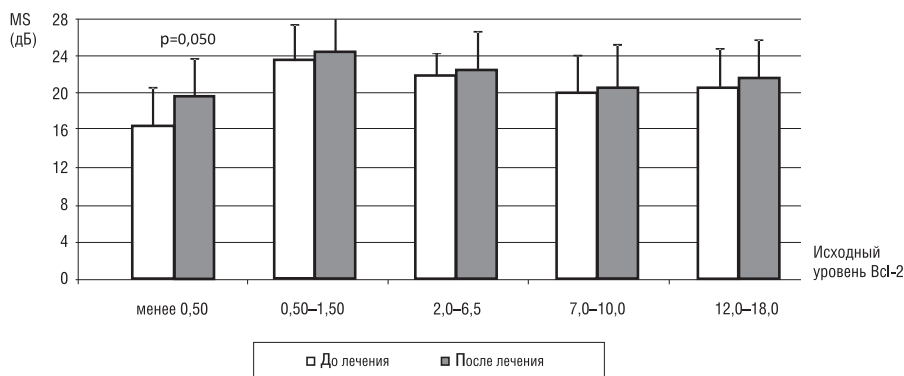
На местном уровне стимулирующее действие цитиколина проявлялось также на всех стадиях ПОУГ: в 8 из 8 случаев (100%) на I, в 14 из 18 (77,7%) на II, в 16 из 18 (88,8%) на III стадии, что было подтверждено статистически при сравнении средних уровней Bcl-2 в СЖ до начала и по окончании курса лечения. Эффект терапии наблюдался при разных фоновых показателях (рис. 3), наиболее значительным он был при низких исходных концентрациях белка; в случаях явного «дефицита» он оказался менее выраженным, а при высоких фоновых показателях — несущественным.

Следует отметить, что при максимальных исходных уровнях Bcl-2 в СК и СЖ (> 10 ед/мл) у ряда больных (2 из 4 и 2 из 6 случаев соответственно) отмечалось снижение его содержания после применения цитиколина.

Сопоставление иммунологических и клинических данных, полученных до и после курса терапии цитиколином, показало, что увеличение содержания Bcl-2 в СЖ сочеталось с достоверным уменьшением площади скотом (снижение индекса MD) (рис. 4) и улучшением светочувствительности сетчатки (повышение индекса MS) (рис. 5), подтверждавшими защитную роль этого белка в патогенезе ПОУГ и лечебный эффект препарата. Следует отметить, что независимо от

уровней Bcl-2 (как исходных, так и после лечения) заметного изменения показателя RNFL, отражающего толщину слоя нервных волокон сетчатки, при использовании цитиколина (в указанной дозе) не обнаружено.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что содержание Bcl-2 в СЖ и СК у больных ПОУГ отражает стадии развития патологического процесса и может служить информативным прогностическим показателем при



p — достоверность различий при сравнении показателей MS перед началом и после окончания курса цитиколина.

Рис. 5. Изменение периметрического индекса MS при разных исходных уровнях Bcl-2 в СЖ пациентов с ПОУГ на фоне лечения цитиколином.

наблюдении и контроле лечения больных. Критериями неблагоприятного течения заболевания являются «дефицит» Bcl-2 в СЖ и/или СК, а также снижение уровней белка в динамике, что подтверждается ухудшением ряда клинко-функциональных показателей (периметрия, ретиномография).

Применение ноотропного препарата цитиколина способствует оптимизации изучавшихся иммунологических и периметрических параметров (повышение уровней Bcl-2 в СЖ и СК, улучшение светочувствительности сетчатки, уменьшение площади скотом) у больных с разными стадиями ПОУГ. Воздействие цитиколина (или отсутствие такового) зависело от фоновых значений Bcl-2 и не затрагивало слой нервных волокон сетчатки (по показателю RNFL). Полученные данные подтверждают отмеченное нами ранее [5] иммунокорригирующее действие препарата и свидетельствуют о том, что при его назначении целесообразно учитывать фоновое содержание Bcl-2 в СК и СЖ. По-видимому, при высоких исходных показателях, особенно в СЖ, использование цитиколина не обосновано, тогда как при отсутствии данного белка в СЖ и/или СК можно думать об увеличении дозы препарата или повторных курсах, что требует дальнейших целенаправленных исследований.

ВЫВОДЫ

1. Получены данные, свидетельствующие о прогностической информативности исследования уровней Bcl-2 в СЖ и СК у больных ПОУГ, что отражает участие и положительную роль данного антиапоптозного белка в развитии заболевания.

2. Признаками риска прогрессирования ПОУГ и усугубления ряда клинко-функциональных (периметрических, ретиномографических) параметров (MS, MD, RNFL), свидетельствующих о развитии оптической нейропатии, являются фактическое отсутствие Bcl-2 в СЖ и СК и снижение его уровней при наблюдении за больными в динамике.

3. Применение цитиколина (парентерально) у больных с I–III/IV стадиями ПОУГ сопровожда-

ется повышением уровней Bcl-2 как в СК, так и в СЖ, оказывает оптимизирующее влияние на клинко-функциональные (периметрические) параметры. Воздействие препарата проявляется в зависимости от фоновых показателей данного маркера апоптоза (иммунокорригирующий эффект) и бывает наиболее выраженным у пациентов с исходно низким содержанием Bcl-2 в обеих тест-пробах, что подтверждается терапевтическим эффектом.

Литература

1. Дроздова Е.А. Увеит при ревматических заболеваниях: особенности клиники, диагностика, иммунопатогенез и лечение // Дис. ... докт. мед. наук. М., 2006, 300 с.
2. Лихванцева В.Г. Роль цитокинов в патогенезе, прогнозе и лечении увеальной меланомы // Дис. ... докт. мед. наук. М., 2001. С. 208–223.
3. Пальцев М.А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук // Вестник РАН. 2002. Т. 72. №1. С. 13–21.
4. Рыжов С.В., Новиков В.В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов // Рос. Биотерапевт. Журн. 2002. Т. 1. № 3. С. 27–33.
5. Слепова О.С., Фролов М.А. и др. Маркеры Fas-опосредованного апоптоза при первичной открытоугольной глаукоме и возможности их фармакологической коррекции // Вест. офтальмологии. 2012. Т. 128. №4. С. 27–31.
6. Стадников А.А., Канюков В.Н. и др. К вопросу о консервации донорской роговицы: современные направления, экспериментально-морфологические обоснования // Вестник ОГУ 2011. №14 (133). С. 349–351.
7. Фролов М.А., Гончар П.А. и др. Влияние парентерального применения цитиколина на зрительные функции и качество жизни больных первичной открытоугольной глаукомой // Вестн. офтальмологии. 2011. Т. 127. № 5. С. 17–21.
8. Фролов М.А., Морозова Н.С., Фролов А.М., Казакова К.А. Цитиколин: перспективы применения при первичной открытоугольной глаукоме // Рос. офтальмол. журн. 2011. Т. 4. № 4. С. 108–112.
9. Almasieh M., Wilson A.M., Morquette B. et al. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma // Mol. Immunol. 2011. V. 48. N 15–16. P. 2151–2158.
10. Barnett E.M., Zhang X., Maxwell D. et al. Single-cell imaging of retinal ganglion cell apoptosis with a cell-penetrating, activatable peptide probe in an in vivo glaucoma model // J. Glaucoma. 2009. V. 18. N 2. P. 93–100.
11. Bautista R.D. Glaucomatous neurodegeneration and the concept of neuroprotection // Acta. Ophthalmol. Scand. Suppl. 1998. V. 227. P. 9–15.
12. Bredesen D.E., Rao R.V., Mehlen P. Cell death in the nervous system // Nature. 2006. V. 443. P. 796–802.
13. Chidlow G., Wood J.P., Casson R.J. Pharmacological neuroprotection for glaucoma // Drugs. 2007. V. 67. P. 725–759.
14. Coassin M., Lambiasi A., Sposato V. et al. Retinal p75 and bax overexpression is associated with retinal ganglion cells apoptosis in a rat model of glaucoma // Cell Mol. Neurobiol. 2008. V. 28. N 2. P. 263–275.
15. Cordeiro M.F., Migdal C., Bloom P. et al. Imaging apoptosis in the eye // Cell Death Dis. 2010. Aug. P. 51–62.
16. Cottet S., Schorderet D.F. Triggering of Bcl-2-related pathway is associated with apoptosis of photoreceptors in Rpe65 — mouse model of Leber's congenital amaurosis // Cell Mol Neurobiol. 2008. V. 28. N 2. P. 263–275.
17. Doh S.H., Kim J.H., Lee K.M. et al. Retinal ganglion cell death induced by endoplasmic reticulum stress in a chronic glaucoma model // Ophthalmic. Res. 2010. V. 43. N 2. P. 61–78.

18. Dreyer E., Grosskreutz C. Neuroprotective effect of relusol in treatment of open angle glaucoma // Abstr. Inter. 1998. V. 8. P. 30–39.
19. Farkas R.H., Grosskreutz C.L. Apoptosis, neuroprotection and retinal ganglion cell death // Int. Ophthalmol. Clin. 2001. V. 41. P. 111–130.
20. Garcia-Valenzuela E., Shareef S., Walsh J. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma // Exp Eye Res. 1995. V. 61. P. 33–44.
21. Golubnitschaja-Labudova O., Liu R., Decker C. et al. Altered gene expression in lymphocytes of patients with normal tension glaucoma // Curr. Eye Res. 2000. V. 21. P. 867–876.
22. Grieb P., Rejdak R. Pharmacodynamics of citicoline relevant to the treatment of glaucoma // Ophthalmology. 1999. V. 106. N 6. P. 1126–1134.
23. Guo L., Moss S.E., Alexander R.A. et al. Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2005. V. 46. P. 175–182.
24. Han Y.S., Chung I.Y., Park J.M. et al. Neuroprotective effect of citicoline on retinal cell damage induced by kainic acid in rats // Ophthalmol. 2005. V. 19. P. 219–226.
25. Jha P., Banda H., Tytarenko R. et al. Complement mediated apoptosis leads to the loss of retinal ganglion cells in animal model of glaucoma // J. Neurosci. Res. 2011. V. 89. N 11. P. 1783–1794.
26. Johnson E.C., Guo Y., Cepurna W.O., Morrison J.C. Neurotrophin roles in retinal ganglion cell survival: lessons from rat glaucoma models // Am. J. Manag. Care. 2008. V. 14. N 1. Suppl. P. 11–14.
27. Kim H.S., Park C.K. Retinal ganglion cell death is delayed by activation of retinal intrinsic cell survival program // Brain Res. 2005. V. 1057. N 1–2. P. 17–28.
28. Kuehn M.H., Fingert J.H., Kwon Y.H. Retinal ganglion cell death in glaucoma: mechanisms and neuroprotective strategies // Ophthalmology. 2004. V. 101. N 11. P. 1076–1086.
29. Ling Z.H., Sun X.H. Glial cell and glaucomatous optic neuropathy // Prog. Retin. Eye Res. 2012 V. 31. N 2. P. 152–181.
30. Mc Kinnon S.J. Glaucoma, apoptosis, and neuroprotection // Jpn. J. Ophthalmol. 1997. V. 41. N 2. P. 84–88.
31. Murakami A., Okisaka S. Neuronal cell death mechanism in glaucomatous optic neuropathy // Zhonghua Yan. Ke. Za. Zhi. 2012. V. 48. N 1. P. 85–88.
32. Nickells R.W. Apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma: an update of the molecular pathways involved in cell death // Exp. Eye Res. 1999. V. 68. N 5. P. 583–590.
33. Nickells R.W. Ganglion cell death in glaucoma: from mice to men // Dev. Neurobiol. 2007. V. 67. N 5. P. 603–616.
34. Nickells R.W. Retinal ganglion cell death in glaucoma: the how, the why, and the maybe // Exp. Eye Res. 1995. V. 61. N 1. P. 33–44.
35. Nickells R.W., Zack D.J. Apoptosis in ocular disease: a molecular overview // J. Glaucoma. 1996. V. 5. N 5. P. 345–56.
36. Okisaka S., Murakami A., Mizukawa A., Ito J. Apoptosis in retinal ganglion cell decrease in human glaucomatous eyes // Ophthalmic Genet. 1996. V. 17. N 4. P. 145–65.
37. Parisi V., Manni G., Colacino G. et al. Cytidine-5'-diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma // Ophthalmology. 1999. V. 106. P. 1126–1134.
38. Park J.R., Hockenbery D.M. BCL-2, a novel regulator of apoptosis // Journal of Cellular Biochemistry. 1996. V. 60. N 1. P. 23–32.
39. Pecori Giraldo J., Virno M., Covelli G. et al. Therapeutic value of citicoline in the treatment of glaucoma (computerized and automated perimetric investigation) // PLoS One. 2011. V. 6. N 3. P. 1765–1769.
40. Quigley H.A. Neuronal death in glaucoma // Ophthalmic. Physiol. Opt. 1998. V. 18. N 2. P. 133–139.
41. Reszec J., Zalewska R., Mariak Z., Sulkowski S. Bcl-xl and Bax protein expression in human optic nerve axons in eyeballs post-trauma and in the eyes with absolute glaucoma // Vision Res. 2005. V. 45. N 2. P. 169–179.
42. Takahashi A., Masuda A., Sun M. et al. Oxidative stress-induced apoptosis is associated with alterations in mitochondrial caspase activity and Bcl-2-dependent alterations in mitochondrial pH (pHm) // Eur. J. Ophthalmol. 2003. V. 13. P. 11–18.
43. Tatton W.G., Chalmers-Redman R.M., Tatton N.A. Apoptosis and anti-apoptosis signaling in glaucomatous retinopathy // Surv. Ophthalmol. 1999. V. 43. Suppl 1. P. 151–161.
44. Zalewska R., Reszec J., Mariak Z. Bcl-2 and Bax protein expression in human optic nerve axons in the eyeballs after severe trauma and in the eyes with absolute glaucoma // Roczn. Akad. Med. Białymst. 2004. V. 49. Suppl. 1. P. 19–21.
45. Zhuo Y., Ge J., Lin M. et al. Expression of bcl-2 gene in human trabecular cells induced by dexamethasone // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2003. V. 44. N 1. P. 347–354.

The contribution of Bcl-2 Protein into the Development of the Apoptotic Process in Primary Open Angle Glaucoma and its Role in Justifying the Need for Neuroprotection

O.S. Slepova¹, M.A. Frolov², N.S. Morozova², A.M. Frolov², J.N. Lovpache¹

¹Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

²Russian Peoples' Friendship University, Moscow

slepowaolga@yandex.ru

The paper is focused on the role of the antiapoptotic protein Bcl-2 in the pathogenesis of glaucomatous optic neuropathy. The content of the soluble form of Bcl-2 in blood serum (BS) and tear fluid (TF) was examined in patients with suspected glaucoma and the different stages of primary open-angle glaucoma (POAG) and its correlation with clinical parameters (perimetry, Heidelberg Retinal Tomography, etc.) before and after a systemic treatment with citicoline, the nootropic drug. The data obtained testify to the predictive value of Bcl-2 levels in TF and BS, which may be considered as a laboratory indicator of the state of the system involved in the negative regulation of apoptosis. The absence of Bcl-2 protein in TF and its low level in BS were associated with the deterioration in perimetry indices (MS, MD) and retinal tomography (RNFL). Parenteral administration of citicoline was found to promote a prognostically favorable elevation of Bcl-2 levels in both BS and TF, which correlated with the improvement of retinal photosensitivity (increased MS) and reduced scotoma area (lower MD). The therapeutic effect of the drug depends on the background levels of Bcl-2 and is most pronounced during the initial "deficiency" in TF.

Key words: glaucoma, apoptosis, Bcl-2, citicoline, tear fluid, blood serum, retinal tomography, perimetry.

Russian Ophthalmological Journal, 2013; 1:32–37