

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 617.753.29-053.6-07:617.764-008.839.6

*Е.Н. Иомдина¹, Е.П. Тарутта¹, И.М. Курьлева¹, Ю.М. Аксенова¹, Е.А. Сурина²,
И.В. Смирнова², А.П. Богачук², В.М. Липкин²*

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СОСТАВА СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ВЫСОКОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ МИОПИЕЙ

¹ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, 105062, Москва;
²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, 117997, Москва

Проведено изучение особенностей белкового состава слезной жидкости (СЖ) детей и подростков с высокой прогрессирующей миопией. Объектом исследования являлись 35 образцов СЖ, взятых у 35 детей и подростков в возрасте от 10 до 17 лет (средний возраст $13,1 \pm 2,2$ лет) с миопией от 5,0 до 20,5 дптр (в среднем $9,5 \pm 3,7$ дптр) и средним градиентом прогрессирования $0,98 \pm 0,8$ дптр/год; из них у 19 детей выявлены различные формы периферических витреохориоретинальных дистрофий. Все включенные в исследование пациенты не пользовались для коррекции миопии контактными линзами. Группу контроля составили образцы СЖ 9 детей и подростков с эметропией той же возрастной группы без изменений на глазном дне. Выявлены характерные отличия СЖ детей и подростков с высокой прогрессирующей миопией: достоверное снижение по сравнению с нормой общего содержания белка и одновременное повышение доли лактоферрина, одного из мажорных протеинов СЖ, обладающего среди других функций антиоксидантным и металлохелатным действием. Полученные данные, с одной стороны, подтверждают патогенетическую роль нарушения антиоксидантной защитной системы сред и тканей глаза в развитии миопического процесса, а с другой — позволяют рассматривать снижение содержания общего белка и повышение относительной доли лактоферрина в СЖ как диагностические признаки прогрессирующего характера миопического процесса.

Ключевые слова: прогрессирующая миопия, слезная жидкость, общий белок, лизоцим, лактоферрин

*E.N. Iomdina¹, E.P. Tarutta¹, I.M. Kuryleva¹, Yu.M. Aksenova¹, E.A. Surina²,
I.V. Smirnova², A.P. Bogachuk², V.M. Lipkin²*

PECULIAR FEATURES OF PROTEIN COMPOSITION OF THE LACRIMAL FLUID IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH HIGH PROGRESSIVE MYOPIA

¹Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases Ministry of Health of the Russian Federation, 105062, Moscow, Russian Federation; ²Federal state budgetary institution of science «Academics M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry» Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Russian Federation

The objective of the present work was to elucidate peculiar features of protein composition of the lacrimal fluid in children and adolescents with high progressive myopia. Thirty five samples of the lacrimal fluid obtained from 35 children and adolescents at the age from 10 to 17 (mean $13,1 \pm 2,2$) years with myopia (5,0 – 20,5 D, mean $9,5 \pm 3,7$ D) developing at the annual progression rate of $0,98 \pm 0,8$ D. were available for the analysis. Nineteen patients had various forms of peripheral vitreochorioretinal dystrophy. None of the patients included in the study used contact lenses to correct myopia. Nine samples of lacrimal fluid were taken from children and adolescents of the same age with emmetropy without changes in the eye fundus. The samples of lacrimal fluid from the patients of the two groups were significantly different in that they contained much less total protein in the children with high progressive myopia compared with the control subjects. At the same time, the relative amount of lactoferrin (one of the major proteins of lacrimal fluid exhibiting antioxidative and metal-chelating activities) in the former group was significantly higher. The results of the study on the one hand confirm the pathogenetic role of the disorders in the antioxidative protective system of the eye tissues and media and on the other hand give reason to consider the reduction of the total protein content and the rise in the lactoferrin fraction in the lacrimal fluid as the diagnostic signs of progressive development of the myopic process.

Key words: progressive myopia, lacrimal fluid, total protein, lysozyme, lactoferrin

Согласно современным представлениям, одним из ведущих патогенетических факторов возникновения и прогрессирования миопии, сопровождающегося удлинением глазного яблока в передне-за-

днем направлении, является растяжение и ослабление склеральной оболочки глаза, связанное с развитием в ее соединительной ткани дистрофического процесса [1—4].

Углубленные морфологические и биохимические исследования изолированной склеры глаз с близорукостью высокой степени выявили существенные нарушения ее экстрацеллюлярных соединительнотканых структур, прежде всего связанные с изменениями в обмене белков, в частности, коллагена [1, 2, 5—7]. Однако прижизненная оценка белкового обмена, в том числе обмена коллагена и других компонентов соединительнотканного матрикса, у пациентов с миопией проводилась только на системном уровне [8—12]. В частности, было установлено увеличение экскреции оксипролина — маркерной аминокислоты коллагена и гликозаминогликанов (ГАГ) — основного компонента межтканевой субстанции соединительной ткани, а также повышение в сыворотке крови детей и подростков с прогрессирующей миопией уровня свободного оксипролина и активности гиалуронидазы — лизосомального фермента, расщепляющего ГАГ [2, 8].

В последние годы для оценки локальных биохимических изменений обмена веществ в тканях глаза используют слезную жидкость (СЖ) как наиболее доступный биологический объект, в определенной степени отражающий метаболические процессы, происходящие в глазу в норме и при патологии [13—17]. Выявление корреляции биохимического состава слезы с наличием и выраженностью изучаемой офтальмопатологии может расширить представление о ее патогенезе и помочь в диагностике, оценке прогноза и выборе патогенетически ориентированной терапии.

Вместе с тем, работ, посвященных изучению белкового состава СЖ при прогрессирующей миопии, в доступной литературе мы не встретили.

Целью настоящей работы является изучение особенностей белкового состава СЖ детей и подростков с высокой прогрессирующей миопией.

Материал и методы. Объектом исследования являлись 35 образцов СЖ, взятых у 35 детей и подростков (20 девочек, 15 мальчиков) в возрасте от 10 до 17 лет (средний возраст $M \pm \sigma$: 13,1 \pm 2,2 лет) с миопией от 5,0 до 20,5 дптр (в среднем $M \pm \sigma$: 9,5 \pm 3,7 дптр) и средним градиентом прогрессирования $M \pm \sigma$: 0,98 \pm 0,8 дптр/год, из них у 19 детей выявлены различные формы периферических витреохориоретинальных дистрофий. Все включенные в исследование пациенты не пользовались для коррекции миопии контактными линзами. Группу контроля составили образцы СЖ 9 детей и подростков с эмметропией (6 девочек, 3 мальчика) в возрасте 10—13 лет (средний возраст $M \pm \sigma$: 12,4 \pm 0,5 лет) без изменений на глазном дне.

СЖ набирали в утренние часы после раздражения слизистой носа с помощью ингаляции 10% раствора гидроксида аммония из нижнего конъюнктивального свода одного глаза микрокапилляром в объеме 100 мкл и помещали в сухую герметичную пробирку. Сразу после забора пробы СЖ замораживали при температуре -18°C. Как показано в работе R. Fullard и C. Snyder [18], содержание некоторых белков в СЖ, в том числе лактоферрина и лизоцима, уровень которых оценивался в данной работе, не зависит от метода ее получения (стимулированная и нестимулированная СЖ).

В пробах СЖ определяли содержание общего белка по методу М.М. Bradford [19]. Качественное определение белкового состава и содержания белков в СЖ проводилось методом SDS-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ), поскольку он считается одним из наиболее экономичных и доступных методов для решения этой задачи [20]. В данной работе белки проб СЖ разделяли с помощью одномерного гель-электрофореза в ПААГ в присутствии SDS и окрашивали раствором Ку-масси. Количественное определение содержания лактоферрина и лизоцима проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием двух различных первичных антител к изучаемым белкам, так называемый «сэндвич-метод» (ELISA) [21]. На твердой фазе были иммобилизованы аффинно-очищенные поликлональные антитела к лизоциму — sheep anti-human Lysozyme (Serotec) и моноклональные антитела к лактоферрину — mouse anti-human Lactoferrin (Serotec). Парам к этим антителам были выбраны антитела кролика к лизоциму человека (GenWay) и антитела кролика к лактоферрину человека (GenWay). В качестве вторичных антител к иммуноглобулинам кролика были использованы аффинно-очищенные козьи антитела к тяжелой и легкой цепи иммуноглобулинов кролика класса Ig, конъюгированные с пероксидазой хрена (Blotting Grade Affinity Purified Goat anti Rabbit IgG (H+L) Horseradish Peroxidase Conjugate (Bio Rad)). В качестве субстрата для ферментативной цветной реакции применяли тетраметилбензидин. Абсорбционность измеряли на спектрофотометре Star Fax 2100 при длине волны поглощения 450 нм и дифференциальной длине волны 630 нм. Для построения калибровочных кривых использовали рекомбинантные лизоцим и лактоферрин человека (USBiological).

Статистический анализ полученных данных проведен с помощью программы Microsoft Excel и пакета статистических программ STATISTICA 6.0. Рассчитывали медианы и оценивали диапазон с 50% всех значений (квартили — 25% и 75%). Значимость различий средних величин количественных признаков оценивалась непараметрическими методами по U-критерию Манна—Уитни для двух независимых групп. Различия считались достоверными в случае $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На первом этапе проводилось определение общей концентрации белка в СЖ пациентов с различной рефракцией, которое показало, что при высокой миопии этот показатель достоверно ниже, чем при эмметропии (рис. 1): 5,65 (4,85; 6,333) мг/мл и 7,66 (6,83; 8,16) мг/мл соответственно ($p = 0,000408$).

В связи с этим необходимо было определить, является ли обнаруженное снижение общей концентрации белка следствием общей депрессии синтетической активности или отражает снижение концентрации каких-либо отдельных белковых компонентов слезы при миопии высокой степени?

Качественное определение содержания белков в СЖ методом SDS-электрофореза в ПААГ показало, что основными белками СЖ являются лизоцим, лактоферрин, липокалин (они составляют 70—85% всех

Таблица 1

Отношение содержания лактоферрина (Ltf) к лизоциму (Lys), а также отношение содержания этих белков к общему содержанию белка (TPC) в СЖ детей и подростков с прогрессирующей миопией высокой степени и эмметропией (контрольная группа), мг/мл

Показатель	Эмметропия (контрольная группа)	Миопия высокой степени	<i>p</i>
Ltf/Lys	1,13 (1,10; 1,20)	1,96 (1,50; 2,36)	0,006754*
Lys/TPC	0,19 (0,17; 0,25)	0,19 (0,16; 0,25)	0,949771
Ltf/TPC	0,23 (0,20; 0,29)	0,37 (0,33; 0,43)	0,000185*

Примечание. * — различие показателей достоверно.

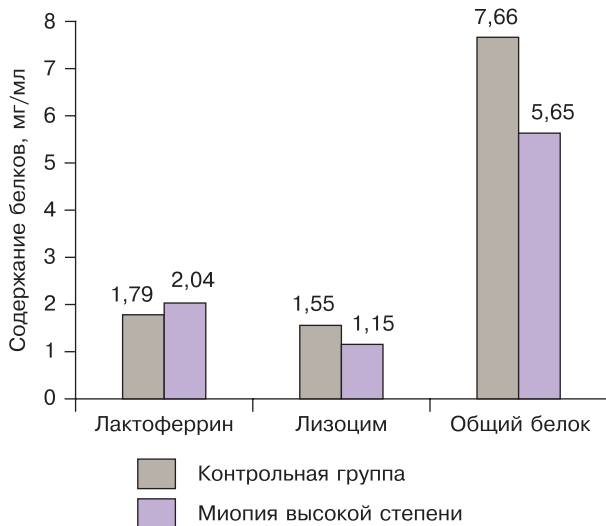


Рис. 1. Содержание основных белков (лактоферрина и лизоцима), а также общего белка (мг/мл) в СЖ детей и подростков с эмметропией (контрольная группа) и прогрессирующей миопией высокой степени.

секретируемых белков), а также трансферрин и секреторный IgA [20]. При разделении этим методом белков СЖ обследованных нами пациентов с эмметропией и миопией высокой степени мы обнаружили, что мажорным белкам соответствуют полосы на уровне ~80 кДа и 19 кДа, в которых, согласно литературным данным, находятся лактоферрин и лизоцим [22].

Для более точного количественного определения содержания данных белков в СЖ далее использовался метод ELISA. Полученные результаты представлены на рис. 1.

Как видно из данных, представленных на рис. 1, при миопии высокой степени концентрация лизоцима оказалась несколько сниженной по сравнению с эмметропией — 1,15 (0,9; 1,36) мг/мл и 1,55 (1,20; 1,97) мг/мл соответственно. Концентрация лактоферрина, наоборот, при миопии высокой степени была несколько выше, чем при эмметропии, — 2,04 (1,77; 2,56) мг/мл и 1,79 (1,56; 2,25) мг/мл соответственно. Однако для обоих белков эти изменения не были статистически достоверными, $p = 0,08$ (на уровне тенденции статистической значимости) для лизоцима и $p = 0,26$ для лактоферрина ($p > 0,05$).

Таким образом, изменения в концентрации лизоцима и в общей концентрации белка характеризуются одной и той же тенденцией: наблюдается их снижение при миопии высокой степени. При этом доля лизоцима в общей концентрации белка (лизоцим/общий белок) остается постоянной и составляет 0,19 (0,16; 0,25) мг/мл при миопии высокой степени и 0,19 (0,17; 0,25) мг/мл при эмметропии (табл. 1).

Как было отмечено выше, концентрация лактоферрина при прогрессирующей миопии высокой степени оказалась несколько повышенной (см. рис. 1). Поскольку общая концентрация белка снижена, доля лактоферрина в общей концентрации белка при миопии высокой степени оказалась существенно (в 1,6 раза) выше, чем при эмметропии (в контрольной группе) — 0,23 (0,2; 0,29) и 0,37 (0,33; 0,43) мг/мл соответственно, различие высоко достоверно ($p = 0,000185$). При

этом, как показывают данные табл. 1, соотношение содержания в СЖ лактоферрина и лизоцима при высокой миопии также достоверно выше (в 1,7 раза), чем у пациентов с эмметропией ($p = 0,006754$), несмотря на значительный индивидуальный разброс уровня этих белков в обеих группах.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что характер изменений уровня лизоцима совпадает с изменениями общей концентрации белка и, вероятно, связан со снижением при прогрессирующей миопии синтетической активности белков соединительной ткани. В то же время изменения в концентрации лактоферрина носят противоположный характер и, вероятно, объясняются другими причинами.

Для выявления возможной связи между снижением содержания общего белка и лизоцима, а также повышением относительной доли лактоферрина в СЖ в развитии миопических осложнений, данные показатели были определены отдельно у детей и подростков с различным характером течения миопического процесса (осложненным и неосложненным). Полученные данные представлены на рис. 2 и в табл. 2.

Полученные результаты не выявили значимых различий: при осложненной миопии высокой сте-

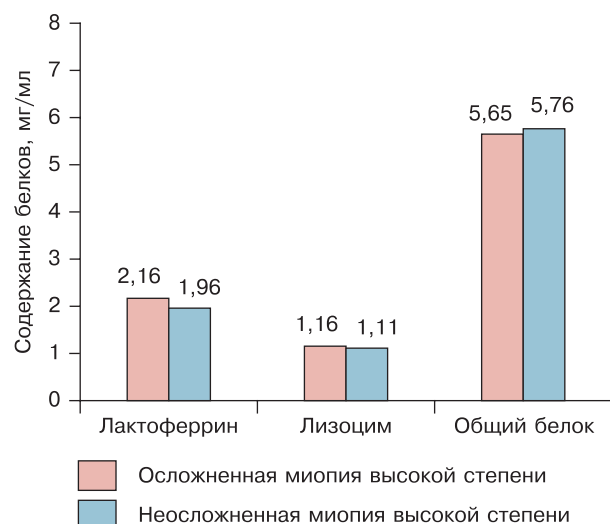


Рис. 2. Концентрация лактоферрина и лизоцима (мг/мл), а также общее содержание белка в СЖ детей и подростков с осложненной и неосложненной миопией высокой степени.

Таблица 2

Отношение содержания лактоферрина (Ltf) к лизоциму (Lys), а также отношение содержания этих белков к общему содержанию белка (TPC) в СЖ детей и подростков с осложненной и неосложненной прогрессирующей миопией высокой степени, мг/мл (медиана, квартили)

Показатель	Миопия		p
	осложненная	неосложненная	
Ltf/TPC	0,38 (0,32; 0,42)	0,37 (0,33; 0,45)	0,816699
Lys/TPC	0,21 (0,18; 0,24)	0,18 (0,12; 0,26)	0,425031
Ltf/Lys	1,79 (1,54; 2,25)	2,19 (1,44; 2,96)	0,382284

пени концентрация лизоцима в СЖ составила 1,15 (1,06; 1,33) мг/мл, при неосложненной — 1,11 (0,59; 1,53) мг/мл, концентрация лактоферрина при осложненной — 2,16 (1,6; 2,56) мг/мл, при неосложненной несколько (недостаточно) ниже — 1,96 (1,83; 2,54) мг/мл. Уровень общего белка также практически не различался у обследованных детей с различным течением миопического процесса, а доля лактоферрина (показатель Ltf/TPC) составила соответственно 0,38 (0,32; 0,42) и 0,37 (0,33; 0,45) мг/мл. Таким образом, можно заключить, что выявленные особенности белкового состава СЖ в основном связаны с процессом прогрессирования миопии и не отражают напрямую наличие дистрофических изменений сетчатки миопического генеза.

Можно предположить, что впервые выявленное снижение в СЖ содержания общего белка и одного из мажорных белков СЖ — лизоцима (при постоянстве его относительной доли) при миопии высокой степени является следствием общей депрессии синтетической активности протеинов в период прогрессирования миопии. Известно, что кроме своей антибактериальной функции, лизоцим также принимает участие в защитных иммунных реакциях, а также в процессах регенерации и заживления ран [16]. В связи с этим в пользу высказанного предположения говорят имеющиеся данные о снижении уровня биосинтеза основного соединительнотканного белка (коллагена) в миопической склере и об увеличении доли его растворимой фракции при одновременном снижении доли нерастворимого коллагена, т. е. о преобладании процессов катаболизма этого белка над его синтезом [2, 8]. Показано также, что у больных с прогрессирующей миопией активность протеаз в СЖ достоверно выше нормы — на 59,1% и на 34,6% выше, чем у больных с косоглазием ($p < 0,01$ в обоих случаях), а также достоверно снижена антипротеолитическая активность (на 30,6% в сравнении с таким показателем у здоровых лиц, $p < 0,05$) [11], что является признаком нарушения белкового обмена при прогрессирующей миопии, проявляющегося на уровне СЖ.

В то же время установленное нами повышение относительной доли лактоферрина (как по отношению к общему содержанию белка в СЖ, так и по отношению к уровню лизоцима), очевидно, отражает другие процессы, связанные с прогрессированием миопии. Как известно, лактоферрин — железосодержащий гликопротеид, обладает множеством разнообразных функций, основными из которых

являются антибактериальная, противовоспалительная, антиоксидантная и металлохелатная [23, 24]. Последние две представляют большой интерес для данного исследования, поскольку ранее было показано, что в СЖ при прогрессирующей миопии меняются показатели, характеризующие состояние антиоксидантной системы, а также увеличивается содержание железа, обладающего прооксидантным действием [2]. При развитии патологических изменений глазного дна, связанных с прогрессирующей миопией, активизируются процессы перекисного окисления липидов при одновременном ослаблении антиоксидантной защитной системы, как на уровне организма, так и непосредственно в органе зрения. Продукты свободнорадикального окисления и активные формы кислорода оказывают повреждающее действие на соединительнотканые и другие структуры оболочек глаза [13, 25], что является существенным фактором прогрессирующего и осложненного течения миопии. Учитывая то, что доля лактоферрина в суммарном белковом составе СЖ значительна, его антиоксидантное действие может вносить существенный вклад в общую антиоксидантную активность сред и тканей глаза и тем самым препятствовать развитию миопического процесса. Повышение концентрации лактоферрина в СЖ при миопии высокой степени может свидетельствовать о компенсаторной реакции организма, направленной на борьбу с активацией окислительных процессов, происходящих при прогрессировании заболевания. Если принять это предположение, то можно рассматривать повышение относительной доли лактоферрина в СЖ как диагностический признак, свидетельствующий о прогрессирующем характере течения миопии.

Заключение

Проведенное сравнительное изучение белкового состава СЖ у детей и подростков с прогрессирующей миопией высокой степени и эмметропией позволило выявить определенные отличия, характерные для изучаемой офтальмопатологии, а именно достоверное снижение при миопии общего содержания белка и одновременное повышение доли лактоферрина, одного из мажорных протеинов СЖ, обладающего среди других функций антиоксидантным и металлохелатным действием. Полученные данные, с одной стороны, подтверждают патогенетическую роль нарушения антиоксидантной защитной системы сред и тканей глаза в развитии миопического процесса, а с другой — позволяют рассматривать снижение содержания общего белка и повышение относительной доли лактоферрина в СЖ как возможные диагностические признаки прогрессирующего характера миопического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисов Э.С. Близорукость. М.: Медицина; 1999.
2. Иомдина Е.Н. Биомеханические и биохимические нарушения склеры при прогрессирующей близорукости и методы их коррекции. В кн.: Аветисов С.Э., Кашенко Т.П., Шамшинова А.М., ред. Зрительные функции и их коррекция у детей. М.: Медицина; 2006: 163—83.
3. Тарутта Е.П. Осложненная близорукость: врожденная и приобретенная. В кн.: Аветисов С.Э., Кашенко Т.П., Шам-

- шинова А.М., ред. Зрительные функции и их коррекция у детей: Руководство для врачей. М.: Медицина; 2005: 137—63.
4. Curtin B.J. The myopias: Basic science and clinical management. Philadelphia: Harper and Row; 1985.
 5. Андреева Л.Д. Структурные особенности склеры при миопии и эмметропии: Дисс. М.; 1981.
 6. McBrien N.A., Gentle A. Role of the sclera in the development and pathological complications of myopia. *Progr. Retin. Eye Res.* 2003; 22: 307—38.
 7. Rada J.A., Shelton S., Norton T.T. The sclera and myopia. *Exp. Eye Res.* 2006; 82 (2): 185—200.
 8. Винецкая М.И., Болтаева З.К., Иомдина Е.Н., Андреева Л.Д. Биохимические аспекты прогрессирующей миопии. *Офтальмологический журнал.* 1988; 3: 155—8.
 9. Баннур Р. Молекулярно-генетические маркеры генов метаболизма коллагена в прогнозировании течения миопии у детей: Дисс. М.; 2011.
 10. Бикбов М.М., Даутова З.А., Саматова Р.Р. и др. Некоторые биохимические показатели крови при приобретенной близорукости у детей. *Вестник российской военно-медицинской академии.* 2009; 3 (27): 52—4.
 11. Бушуева Н.Н., Коломийчук С.Г., Шариф А.А. Активность трипсинаподобных протеаз и антипротеолитическая активность в сыворотке крови и слезной жидкости у детей и подростков с прогрессирующей близорукостью. *Офтальмологический журнал.* 2002; 4: 31—4.
 12. Саматова Р.Р. Разработка методов прогноза и лечения прогрессирующей миопии у детей: Дисс. М.; 2011.
 13. Винецкая М.И., Иомдина Е.Н., Кушнаревич Н.Ю. и др. Значение показателей перекисного окисления липидов и антирадикальной защиты слезной жидкости для прогнозирования и лечения осложненной близорукости. *Вестник офтальмологии.* 2000; 5: 54—5.
 14. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии. *Вопросы медицинской химии.* 1990; 3: 13—8.
 15. Сомов Е.Е., Бржеский В.В. Слеза (физиология, методы исследования, клиника). СПб.; 1994.
 16. Чеснокова Н.Б., Безнос О.В. Гидролитические ферменты слезной жидкости в норме и патологии. *Российский офтальмологический журнал.* 2012; 5 (4): 107—11.
 17. Ohashi Y., Dogru M., Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin. Chim. Acta.* 2006; 369 (1): 17—28.
 18. Fullard R., Snyder C. Protein levels in nonstimulated and stimulated tears of normal human subjects. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1990; 31 (6): 1119—26.
 19. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 1976; 72: 248—54.
 20. Kuizenga A., van Haeringen N.J., Kijlstra A. SDS-minigel electrophoresis of human tears. Effect of sample treatment on protein patterns. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1991; 32: 381—6.
 21. Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochimistry.* 1971; 8: 871—4.
 22. Ng V., Cho P., Wong F., Chan Y. Variability of tear protein levels in normal young adults: diurnal (daytime) variation. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2001; 239: 257—63.
 23. Ward P.P., Paz E., Conneely O.M. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell. Mol. Life Sci.* 2005; 62: 2540—8.
 24. Flanagan J.L., Willcox M.D. Role of lactoferrin in the tear film. *Biochimie.* 2009; 91 (1): 35—43.
 25. Кушнаревич Н.Ю. Критерии перехода миопии в осложненную форму: Дисс. М.; 2000.
 - book: Avetisov S.E., Kashhenko T.P., Shamshinova A.V., eds. Zritel'nye funkcii i ikh khorrekciya u detej. M.: Medicina; 2006: 163—83 (in Russian).
 3. Tarutta E.P. Complicated myopia: congenital and acquired. In book: Avetisov S.E., Kashhenko T.P., Shamshinova A.V., eds. Zritel'nye funkcii i korrekciyu u detej. M.: Medicina; 2005: 137—63 (in Russian).
 4. Curtin B.J. The myopias: Basic science and clinical management. Philadelphia: Harper and Row; 1985.
 5. Andreeva L.D. Structural peculiarities of the sclera in myopia and emmetropia: Diss. Moscow; 1981 (in Russian).
 6. McBrien N.A., Gentle A. Role of the sclera in the development and pathological complications of myopia. *Progr. Retin. Eye Res.* 2003; 22: 307—38.
 7. Rada J.A., Shelton S., Norton T.T. The sclera and myopia. *Exp. Eye Res.* 2006; 82 (2): 185—200.
 8. Vinetskaya M.I., Boltaeva Z.K., Iomdina E.N., Andreeva L.D. Biochemical aspects of progressive myopia. *Oftal'mol. zhurn.* 1988; 3: 155—8 (in Russian).
 9. Bannur R. Molecular and genetic markers of collagen metabolism for the prognosis of myopia course in children and adolescents: Diss. Moscow; 2011 (in Russian).
 10. Bikbov M.M., Dautova Z.A., Samatova R.R. et al. Certain blood biochemical parameters of the children with acquired myopia. *Vestnik rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii.* 2009; 3 (27): 52—4 (in Russian).
 11. Bushueva N.N., Kolomijchuk S.G., Sharif A.A. The activity of protein-like proteases and antiproteolytic activity of blood serum and tear fluid of children and adolescents with progressing myopia. *Oftal'mol. zhurnal.* 2002; 4: 31—4 (in Russian).
 12. Samatova R.R. The development of prognostication and treatment techniques of progressing myopia in children: Diss. Moscow; 2011 (in Russian).
 13. Vinetskaya M.I., Iomdina E.N., Kushnarevich N.Yu. et al. Values of tear fluid lipid peroxidation and antiradical defense parameters for prognosis and treatment of complicated myopia. *Vestnik oftal'mologii.* 2000; 5: 54—5 (in Russian).
 14. Petrovich Yu.A., Terekhina N.A. Biochemistry of tear fluid and its changing in pathology. *Voprosy med. Khimii.* 1990; 3: 13—8 (in Russian).
 15. Somov E.E., Brzheskij V.V. Tear fluid (physiology, analysis, clinics). S-Peterburg.; 1994 (in Russian).
 16. Chesnokova N.B., Beznos O.V. Hydrolytic Enzymes in Normal and Pathologic Tear Fluid. *Rossijskij oftal'mologicheskij zhurnal.* 2012; 5 (4): 107—11 (in Russian).
 17. Ohashi Y., Dogru M., Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin. Chim. Acta.* 2006; 369 (1): 17—28.
 18. Fullard R., Snyder C. Protein levels in nonstimulated and stimulated tears of normal human subjects. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1990; 31 (6): 1119—26.
 19. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 1976; 72: 248—54.
 20. Kuizenga A., van Haeringen N.J., Kijlstra A. SDS-minigel electrophoresis of human tears. Effect of sample treatment on protein patterns. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1991; 32: 381—6.
 21. Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochimistry.* 1971; 8: 871—4.
 22. Ng V., Cho P., Wong F., Chan Y. Variability of tear protein levels in normal young adults: diurnal (daytime) variation. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2001; 239: 257—63.
 23. Ward P.P., Paz E., Conneely O.M. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell. Mol. Life Sci.* 2005; 62: 2540—8.
 24. Flanagan J.L., Willcox M.D. Role of lactoferrin in the tear film. *Biochimie.* 2009; 91 (1): 35—43.
 25. Kushnarevich N.Yu. The criteria for the transition of myopia to the complicated form: Diss. Moscow; 2000 (in Russian).

REFERENCES

1. Avetisov E.S. Myopia. M.: Medicina; 1999 (in Russian).
2. Iomdina E.N. Biomechanical and biochemical disorders of the sclera in progressive myopia and methods of their correction. In