

ИССЛЕДОВАНИЕ БАЛАНСА ЦИТОКИНОВ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПОСЛЕ ФИСТУЛИЗИРУЮЩИХ АНТИГЛАУКОМАТОЗНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Эффект фистулизирующих операций при глаукоме снижается в каждом третьем случае через 1–3 года после вмешательства. Профилактика возникновения неадекватной воспалительной реакции и попытка «управления» процессом заживления позволяют пролонгировать гипотензивный эффект и повысить результативность этих вмешательств. Понимание особенностей течения послеоперационного регенераторно-репаративного процесса и знание факторов, определяющих продолжительность и последовательность его фаз как на местном, так и на системном уровнях, делают эти подходы патогенетически обоснованными.

Проведено исследование слезной жидкости методом иммуноферментного анализа с определением уровня интерлейкина 8 (ИЛ-8), интерлейкина 6 (ИЛ-6), и изоформ 121 и 165 семейства фактора роста эндотелия сосудов VEGF-A. Исследованию подверглись пациенты (n=42) с некомпенсированной глаукомой. Группу контроля составили здоровые субъекты (n=18).

Исследована динамика провоспалительных и проангиогенных цитокинов в сроки накануне, на 3-и сутки и через 2 месяца после операции. Уровень Интерлейкина 8 составил $656,8 \pm 205,7 / 656,8 \pm 205,7 / 175 \pm 89,3$ pg/ml. Уровень Интерлейкина 6 – $23,28 \pm 9,03 / 47,7 \pm 25 / 33,0 \pm 9,2$ pg/ml. Уровень изоформ 121 и 165 семейства VEGF A – $703,8 \pm 379,4 / 364,4 \pm 150 / 590 \pm 230,7$ pg/ml (количественные значения указаны в порядке, соответствующем обозначенным срокам). В группе пациентов, получающих пролонгированную схему противовоспалительной терапии, с включением в неё препарата Restasis®, конечный уровень ВГД оказался существенно ниже ($p < 0,05$), как и количество пациентов с успешным исходом вмешательства.

Динамика провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-6 свидетельствует об исходно измененной локальной реактивности тканей и подтверждает течение воспалительной реакции как минимум в течение 2-х месяцев послеоперационного периода. Динамика изоформ 121 и 165 семейства VEGF A подтверждает длительный характер процессов фиброплазии и васкулогенеза и обосновывает возможное включение ингибиторов ангиогенеза в послеоперационную реабилитацию пациентов.

Ключевые слова: цитокины слезной жидкости, фистулизирующая хирургия глаукомы, рубцевание путей оттока, циклоспорин А (Restasis®).

На сегодняшний день признан факт постепенного и порой «драматического» развития рубцовых трансформаций (так называемого «гиперрубцевания») во вновь сформированных путях оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) после фистулизирующих антиглаукоматозных вмешательств (ФАВ), вне зависимости от способа и микрохирургической технологии их выполнения.

В борьбе за адекватное формирование путей оттока ВГЖ сходятся ответная реакция организма и попытка офтальмолога управлять процессом заживления с применением лекарственных препаратов различного спектра действия, модифицированных технологий, дренажей, хирургических манипуляций и др. [1], [2].

Профилактика возникновения неадекватной воспалительной реакции в предоперационном периоде и попытка «управления» процессом заживления позволяют пролонгировать гипотензивный эффект и повысить результативность этого вида вмешательств [3]–[5]. Однако, понимание особенностей течения послеоперационного регенераторно-репаративного про-

цесса и знание факторов, определяющих продолжительность и последовательность его фаз, как на местном, так и на системном уровнях, делают эти подходы патогенетически обоснованными [6]–[9].

Целью работы явилась оценка клинической картины основных фаз процесса заживления после фистулизирующих антиглаукоматозных вмешательств и их согласованности с изменением уровня цитокинов на фоне послеоперационного медикаментозного сопровождения.

Материалы и методы

Исследованию подверглись пациенты (n=42) с некомпенсированной глаукомой и толерантным уровнем внутриглазного давления (ВГД) на фоне максимальной гипотензивной терапии.

Из них: с первичной открытоугольной глаукомой – 9, псевдоэксфолеативной – 30, врожденной – 3.

В качестве объекта исследования выбрана слезная жидкость, как биологическая среда, которая характеризует состояние и активность

местного иммунного и воспалительного статуса тканей, с которыми она контактирует.

Исследование слезной жидкости проведено методом иммуноферментного анализа (ИФА) с количественным определением уровня интерлейкина 8 (ИЛ-8), интерлейкина 6 (ИЛ-6), и изоформ семейства фактора роста эндотелия сосудов VEGF-A (VEGF 121 и VEGF 165) методом твердофазного «сэндвича», с применением моно – и поликлональных антител. Группу контроля составили здоровые субъекты, обратившиеся в клинику для профилактического осмотра (n=18).

Состоятельность вновь сформированных путей оттока ВГЖ у оперированных пациентов оценена с применением ультрабиомикроскопического (УБМ) мониторинга, включающего характеристики внутренней фистулы, интрасклерального канала и фильтрационной подушки. В зависимости от применяемой схемы послеоперационной медикаментозной поддержки пациенты разделены на 2 группы. Первую группу составили пациенты, получающие стандартную схему послеоперационной терапии (n=26), вторую – пациенты, в схему лечения которых включен препарат Циклоспорин А (Restasis®) (n=16). Сроки наблюдения составили 6–24 месяцев.

Эффективными считались вмешательства, не потребовавшие дополнительной гипотензивной терапии по данным динамической тонометрии в течение всего периода наблюдения.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ Microsoft Excel и STATISTICA. Достоверными считались результаты с уровнем значимости $p > 0.05$.

Все исследования одобрены локальным этическим комитетом и проведены с соблюдением принципов, предъявляемых Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации.

Результаты и обсуждение

Процесс формирования путей оттока после фистулизирующих вмешательств длительный и многоэтапный (рис. 1, цветная вкладка). Сценарий заживления определяют первичный сосудистый ответ, выброс пула лейкоцитов, медиаторов воспаления и факторов роста, таких, как TGF β (трансформирующий фактор роста β), PDGF (тромбоцитарный), IGF (инсулиноподобный), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) [7], [10], [11].

В свою очередь, первичный сосудистый ответ обусловлен многими составляющими, пре-

жде всего местными и системными факторами риска, активирующими процессы локальной репаративной регенерации [12]. Если действие центральных регуляторных систем и генерация местных факторов роста сбалансированы, то в норме в фазе ремодуляции процесса заживления (в среднем, на 25-е сутки послеоперационного периода) происходит апоптоз фибробластов, созревание коллагена и формирование путей оттока ВГЖ заканчивается [13], [14].

В этом случае определяющими критериями состоятельности путей оттока ВГЖ являются наличие сквозной внутренней фистулы (сформированной интраоперационно при вмешательствах проникающего типа или в результате лазерной десцеметогониопунктуры при непроникающих двухэтапных вмешательствах), параметрический показатель высоты скана по данным УБМ-мониторинга, а также ультразвуковая и биомикроскопическая оценка фильтрационной подушки [15].

Однако, каскад фаз процесса заживления зачастую не последователен, чреват развитием обратных связей, когда вследствие избыточной генерации факторов роста, веществ межклеточного взаимодействия (цитокинов) выявляются признаки неадекватной воспалительной реакции: «патологическая» фильтрационная подушка (ФП) с элементами отека, выраженной сосудистой инъекции, штопорообразной извитостью сосудов, тенденцией к отграничению, а также общей ирритацией и декомпенсацией ВГД. Подобная клиническая картина сопровождается соответствующей УБМ-симптоматикой с формированием участков гиперэхогенности и облитерации различной локализации, в ряде случаев уже ранней декомпенсаций уровня ВГД, что предвещает неблагоприятный исход вмешательства и требует незамедлительного проведения реабилитационных мероприятий.

Ориентируясь на сроки возникновения и длительность фаз регенераторно-репаративного процесса, нами оценена динамика некоторых заинтересованных в этом процессе цитокинов (табл. 1).

Референтные значения: ИЛ-8 300-350 pg/ml, ИЛ-6 10-20 pg/ml, изоформы 121 и 165 семейства VEGF A 200-300 pg/ml.

Как известно, провоспалительный хемокин интерлейкин-8 индуцирует хемотаксис и активацию нейтрофилов, макрофагов и ростовых факторов. В нашем исследовании средний уровень ИЛ-8 составил 656 pg/ml, а индивидуальные вариации – от 400 до 800 pg/ml. Во всех случаях уровень этого хемокина был выше ре-

ферентных значений (определенный в слезной жидкости у здоровых людей). На третьи сутки уровень ИЛ-8 увеличился в 2 раза, что вполне очевидно, если вспомнить цепь клеточных реакций воспалительного процесса. Совершенно закономерно наблюдающееся на фоне противовоспалительной терапии неуклонное снижение его уровня даже ниже предоперационного.

Провоспалительный цитокин ИЛ-6, продуцируемый Т – и В-лимфоцитами, макрофагами, фибробластами, активирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, способствует повышению экссудации, влияет на продукцию ростовых факторов и опосредует хроническое воспаление. Динамика ИЛ-6 также выявила тенденцию к росту, а его высокий уровень через 2 месяца после операции подтвердил длительность процесса послеоперационной регенерации.

Наиболее интересные результаты получены при оценке проангиогенных изоформ 121 и 165 семейства VEGF A. Тренд этих цитокинов свидетельствует о тенденции к некоторому снижению их уровня на 3 сутки и постепенному увеличению до исходных значений к 2-м месяцам послеоперационного периода. Выявленный тренд может свидетельствовать в пользу длительного течения фаз генерации грануляционной ткани и ремодуляции рубца, закономерно сопровождающихся процессами васкулогенеза. Выявленная особенность определяется механизмом действия изоформ семейства VEGF A. Так, именно VEGF 121 и VEGF 165 оказывают влияние на рост кровеносных сосудов, что в случае формирования путей оттока подтверждает его длительный характер (рис. 1, цветная вкладка).

Наряду с определением уровня цитокинов, в послеоперационном периоде пациенты были разделены на две группы. Первая группа (n=26) получала схему пролонгированной медикаментозной поддержки, включающую глюкокортикостероид 0,1 % в течение 2 месяцев по убывающей схеме, нестероидное противовоспалительное средство по 1 капле 3 раза в день в

течение 1 месяца, блокатор H1 –гистаминовых рецепторов по 1 капле 2 раза в день в течение 1 месяца. Вторая группа пациентов (n=16) в дополнение к указанной схеме получала циклоспорин А 0,05 % (Restasis®) по 1 капле 2 раза в день в течение 2 месяцев. Назначение препарата Restasis® обусловлено его противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, что в комбинации с другими препаратами позволяет ограничить воспаление конъюнктивы, обладающей высокой иммунокомпетентностью, и повысить эффективность вмешательства. При необходимости пациентам проводились дополнительные манипуляции, направленные на оптимизацию формирования путей оттока внутриглазной жидкости.

Разница в показателях офтальмотонуса оказалась существенной и составила до 5 мм в отдаленном послеоперационном периоде (p>0.05.). То есть, в группе пациентов, получающих циклоспорин А, конечный уровень ВГД оказался существенно ниже (рис. 2, цветная вкладка).

При оценке отдаленных результатов, в группе пациентов, получающих стандартную медикаментозную поддержку, пути оттока оказались состоятельными в 20 случаях, в период наблюдения 1–1,5 года полное или частичное рубцевание наблюдалось в 6 случаях, что потребовало дополнительной медикаментозной поддержки.

Среди группы пациентов, получающих Restasis®, неуспех наблюдался у двух пациентов, что также привело к рестарту гипотензивной терапии.

Выводы

1. Повышение ИЛ – 8 в раннем послеоперационном периоде подтверждает воспалительный характер таких клинических симптомов, как гиперемия, вазодилатация и отек в зоне фильтрационной подушки.

2. Формирование путей оттока ВГЖ сопровождается хронической воспалительной реакцией в течение как минимум 2-х месяцев

Таблица 1. Динамика цитокинов слезной жидкости в различные периоды у пациентов после фистулизирующих вмешательств, pg/ml (n=42)

Наименование	накануне операции	3-и сутки после операции	2 месяца после операции
Интерлейкин 8	656,8±205,7	1204±198,4	175±89,3
Интерлейкин 6	23,28±9,03	47,7±25	33,0±92
Изоформ 121 и 165 семейства VEGF A	703,8±379,4	364,4±150	590±230,7

после операции, что подтверждается дисбалансом IL – 6.

3. Динамика изоформ 121 и 165 семейства VEGF A подтверждает длительный характер процессов фиброплазии и ангиогенеза после фистулизирующих вмешательств.

Следовательно, знание фаз и клинических проявлений процесса формирования путей оттока ВГЖ после фистулизирующих вмешательств, выявленная динамика провоспалительных и проангиогенных цитокинов определяют необходимость пролонгированной этиопатоген-

нетической терапии в процессе реабилитации после хирургического лечения глаукомы.

Применение ингибиторов каскада воспалительных реакций, модуляторов заживления, ингибиторов ангиогенеза, протеолитиков в соответствии с указанными сроками, подтверждается динамикой исследованных цитокинов, что позволяет управлять процессом заживления, оптимизируя морфогенез путей оттока ВГЖ, и сводя к минимуму неуспех фистулизирующих вмешательств.

10.09.2015

Список литературы:

1. Khaw P.T., Sherwood M.B., MacKay S.L., et al. Five-minute treatments with fluorouracil, floxuridine, and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts // Arch Ophthalmol. – 1992. – Vol.110. – P.1150-1154.
2. Jordan J.F., Diestelhorst M., Grisanti S. Photodynamic modulation of wound healing in glaucoma filtration surgery // Br.J.Ophthalmol. – 2003. – Vol.87. – P.870 – 875.
3. Юрьева Т.Н., Волкова Н.В. Алгоритм реабилитационных мероприятий на этапах формирования путей оттока после непроходящей глубокой склерэктомии // Офтальмохирургия. – 2007. – № 4. – С.67 – 71.
4. Jordan J.F., Diestelhorst M., Grisanti S. Photodynamic modulation of wound healing in glaucoma filtration surgery // Br.J.Ophthalmol. – 2003. – Vol.87. – P.870 – 875.
5. Lama P.J., Fecthner R.D. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery // Surv. Ophthalmol. – 2003. – Vol.48, №3. – P.314 – 346.
6. Волкова Н.В., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н. Неадекватная репаративная регенерация в фистулизирующей хирургии глаукомы // Офтальмохирургия. – 2014. – №3. – С. 60-66.
7. Siriwardena D., Klaw P.T., King A.J. et al. Human antitransforming growth beta monoclonal antibody – a new modulator of wound healing in trabeculectomy: a randomized placebo controlled clinical study // Ophthalmology. – 2002. – Vol.109. – P.427-431.
8. Stalmans I. Study shows better trabeculectomy outcomes in patients receiving intracameral bevacizumab // Eurotime. – 2012. – Vol 16, N 11. – P. 24.
9. Seibold L.K., Sherwood M.B., Kahook M.Y. Wound Modulation after filtration surgery // Survey of ophthalmology. – 2012. – Vol.57, N6. – P. 530-550.
10. Chang L., Crowston J.G., Cordeiro M.F. et al. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery // Surv. Ophthalmol. – 2000. – Vol.45. – P.49-68.
11. Choi J.Y., Choi J., Kim Y.D. Subconjunctival bevacizumab as an adjunct to trabeculectomy in eyes with refractory glaucoma: a case series // Korean J. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 24. – No. 1. – P. 47-52.
12. Васильева Л.С., Малышев В.В., Кузьменко В.В. и др. Воспаление и стресс.-Иркутск: ЛИСНА и К, 1995.-124с.
13. Lockwood A., Brocchini St., Khaw P. Tee. New developments in the pharmacological modulation of wound healing after glaucoma filtration surgery // Current Opinion in Pharmacology. – 2013. – Vol.13. – P.65-71.
14. Shaaramy T.M., Sherwood M.B., Hitchings R.A. et al. Glaucoma, Philadelphia, Saunders Elsevier, 2009. – Vol.1. – P. 383-392.
15. Волкова Н.В., Юрьева Т.Н., Щуко А.Г., Малышев В.В. Классификация путей оттока внутриглазной жидкости после фистулизирующих антиглаукоматозных вмешательств// Глаукома.-2008.-№3.С.16-20.

Сведения об авторах:

Волкова Наталья Васильевна, заведующий научно-образовательным отделом Иркутского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова, кандидат медицинских наук, тел.: (3952) 703-097 e-mail: vnv-mntk@mail.ru

Юрьева Татьяна Николаевна, заместитель директора по научной работе Иркутского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова, доцент кафедры глазных болезней Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования, доктор медицинских наук, тел.: (3952) 564139, e-mail: shishkinamntk@mail.ru