

ИЗУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ TGF- β 2 В СЛЕЗЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ В ДИНАМИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И ЕГО РОЛЬ В ИЗБЫТОЧНОМ РУБЦЕВАНИИ ПОСЛЕ АНТИГЛАУКОМНЫХ ОПЕРАЦИЙ

Изучен уровень TGF- β 2 в слезной жидкости (СЖ) и сыворотке крови (СК) у больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) в динамике хирургического лечения для определения возможности прогнозирования исходов антиглаукомных операций.

Анализ концентрации TGF- β 2 в сыворотке крови и слезной жидкости был проведен у 23 пациентов с ПОУГ в динамике оперативного лечения. В качестве антиглаукомной операции применялась глубокая склерэктомия (ГСЭ). Концентрацию TGF- β 2 в СК и СЖ исследовали до операции, через неделю, 1 месяц, 3 месяца и 6 месяцев после нее.

У оперированных больных с продвинутыми стадиями ПОУГ выявлен повышенный уровень TGF- β 2 в сыворотке крови и слезной жидкости. Рецидив повышения ВГД вследствие избыточного послеоперационного рубцевания сопровождался повышением уровня TGF- β 2 с максимальной концентрацией в сыворотке крови через 3 месяца после проникающей ГСЭ.

Высокий локальный дооперационный уровень TGF- β 2 может использоваться в качестве прогностического маркера раннего избыточного послеоперационного рубцевания вновь созданных путей оттока внутриглазной жидкости.

Ключевые слова: ПОУГ, слеза, сыворотка, TGF- β 2, рубцевание.

Данные литературы свидетельствуют о вовлечении иммунных механизмов в развитие местных репаративных процессов после антиглаукомных операций и возможности прогнозирования результатов хирургического лечения глаукомы, основанного на выявлении иммунологических факторов риска избыточного рубцевания вновь созданных путей оттока.

В широкой клинической практике, однако, это обстоятельство практически не учитывается, хотя выявление новых иммунологических маркеров риска избыточного рубцевания, по мнению некоторых авторов [1]–[6], должно являться необходимым условием для разработки современных хирургических методов лечения глаукомы.

Повышенный интерес к системе цитокинов связан с ключевой ролью этих молекул в развитии патологии у человека. Так, установлено, что при раннем послеоперационном избыточном рубцевании нарастает дисбаланс в продукции трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) – усугубление системного дефицита при местной гиперпродукции, ослабление продукции противовоспалительных цитокинов [7]. Другая форма – TGF- β 2 стимулирует экспрессию и активность тканевых трансглутаминаз – ферментов, связывающих белки экстрацеллюлярного матрикса в комплексы, устойчивые к протео-

лизису, что ведет к зарастанию путей оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) при хирургии глаукомы [8].

Благоприятные исходы антиглаукоматозных операций ассоциируются с практически неизменным местным и системным содержанием TGF- β 1 и активизацией противовоспалительных цитокинов – интерлейкинов 4 и 6 (IL-4 и IL-6), особенно при вторичной глаукоме [5].

В то же время, низкая концентрация гамма интерферона (IFN- γ) в слезной жидкости (СЖ), а также высокие уровни фактора некроза опухоли - α (TNF- α) и IL-6 в ВГЖ до операции являются прогностически неблагоприятными признаками и свидетельствуют о высоком риске развития избыточного рубцевания в ближайшие месяцы после непроникающей операции [9].

Прогностическими признаками неблагоприятного исхода являются существенное повышение локального уровня TNF- α и антител к денатурированной ДНК в первую неделю после хирургического вмешательства [10].

У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) существенную роль в регуляции репаративных процессов после антиглаукомных операций играет IL-17, который стимулирует выработку основных провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF, и IL-6) и регулирует ангиогенез [11], [12]. В частности,

у пациентов с ПОУГ исходный уровень IL-17 выше, чем в норме, что можно объяснить наличием вялотекущего хронического воспаления на фоне длительной местной гипотензивной терапии [13]. Отмечается повышенное содержание в слезной жидкости больных глаукомой провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α), а также фактора роста TGF- β , что коррелирует с избыточным рубцеванием созданных путей оттока внутриглазной жидкости [14].

Перспективным направлением повышения эффективности антиглаукоматозных операций является цитокиноterapia, которая способствует уменьшению пролиферации фибробластов в раневом канале и формированию рубцовой ткани с более выраженной проницаемостью. Так, применение в клинике инстилляций препарата Суперлимф способствовало снижению локального содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , а также нормализации содержания TGF- β 1 и TGF- β 2, что привело к снижению риска развития послеоперационных осложнений и обеспечило стойкую нормализацию ВГД [15]. Наиболее предпочтительным является подшивание в ходе микроинвазивной НГСЭ в сформированное интрасклеральное ложе коллагенового импланта, насыщенного цитокинами (препарат «Суперлимф»), способных регулировать активность иммунновоспалительного процесса.

При этом, выявленная тенденция к снижению концентраций IL-1 β в СЖ позволяет считать, что применение такого имплантата способствует снижению воспалительной активности, а нарастание концентрации TGF- β 2 через месяц после операции без использования данного дренажа может являться фактором, стимулирующим избыточное рубцевание [2], [8].

Таким образом, остается еще много вопросов о значении цитокинов в течение послеоперационного периода и гипотензивном исходе операций при глаукоме. В частности, роль, например, трансформирующего фактора роста (TGF- β 2) в развитии ПОУГ и неблагоприятного исхода оперативного лечения при данном заболевании остается недостаточно ясной.

Цель

Изучить в сравнительном аспекте уровни TGF – β 2 в СЖ и сыворотке крови (СК) у боль-

ных ПОУГ в динамике хирургического лечения для определения возможности прогнозирования исходов антиглаукомных операций.

Материал и методы.

Анализ концентрации TGF- β 2 в сыворотке крови и слезной жидкости был проведен у 23 пациентов с ПОУГ (с развитой – 11 глаз и далекозашедшей – 12 стадиями заболевания) в динамике оперативного лечения. В качестве антиглаукомной операции применялась глубокая склерэктомия (ГСЭ).

Концентрацию TGF- β 2 в СК и СЖ исследовали до операции, через неделю, 1, 3 и 6 месяцев после нее методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре «Мультискан», с помощью тест-системы «eBioscience» (Австрия). Чувствительность метода для TGF- β 2 – от 2 пкг/мл.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы «STATISTICA» 6.1. Рассчитывали групповые показатели суммарной статистики – среднюю арифметическую величину (M) и ошибку средней (m). Использовались критерии Колмогорова-Смирнова, Фишера, Стьюдента, Манна-Уитни и Уилкоксона. Парное сравнение частотных данных проводилось с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведенный анализ концентрации TGF- β 2 в СК и СЖ пациентов ПОУГ не выявил гендерного различия. В таблице представлены результаты определения содержания данного фактора роста в СК в до – и послеоперационном периоде. Как видно, содержание TGF- β 2 в СК до операции у пациентов ПОУГ в среднем было достоверно выше (в 3,4 раза, $p \leq 0,05$) значений контрольной группы.

Через неделю после операции и в последующие сроки исследования отмечалось дальнейшее повышение уровня TGF- β 2 в СК. Максимальная концентрация данного цитокина наблюдалась через 3 месяца, статистически значимо превышая не только дооперационный показатель ($p \leq 0,05$), но и таковые через неделю и месяц ($p \leq 0,05$) после операции. Через 6 месяцев после хирургического лечения ПОУГ

Таблица 1. Уровни TGF-β2 в сыворотке крови и слезной жидкости больных ПОУГ до – и в различные сроки после операции, пг/мл (M±SD)

Исследуемые образцы	Срок наблюдения					
	контроль	до операции	через 7 дней	через 1 месяц	через 3 месяца	через 6 месяцев
сыворотка крови	1265,4 ± 131,7	4241,8 ± 176,2 *	5354,1 ± 352,2 *	5230,6 ± 298,1 *	6989,6 ± 315,2 *	4904,3 ± 285,1 *
слезная жидкость	3625,8 ± 215,5	11585,7 ± 275,0 *	12484,3 ± 355,9 *	13264,9 ± 384,4 *	11395,9 ± 351,0 *	9361,3 ± 300,2 *

Примечание: * – различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$)

системный уровень TGF-β2 практически приблизился к дооперационному, существенно превышая таковой в контроле ($p \leq 0,05$).

Содержание изучаемого фактора роста в СЖ до операции у больных ПОУГ оказалось также существенно выше ($p \leq 0,05$), чем в контрольной группе. В течение всего срока наблюдения за оперированными пациентами было отмечено достоверно высокое его содержание в сравнении с контролем.

Через неделю после операции отмечали тенденцию к дальнейшему повышению локальной концентрации TGF-β2, а через месяц – его максимальный уровень.

В последующие сроки наблюдения отмечали постепенное снижение концентрации, причем к 6 месяцу было констатировано уже существенное ($p \geq 0,05$) ее уменьшение в сравнении с таковой до операции и в предыдущие сроки исследования.

Таким образом, у пациентов с ПОУГ отмечалось достоверное повышение системной и локальной концентрации TGF-β2 после антиглаукомной операции. При этом максимальная сывороточная концентрация TGF-β2 отмечалась через 3 месяца после ГСЭ, а локальная (в слезе) – уже через 1 месяц.

Был проведен также анализ содержания TGF-β2 в СК и СЖ в зависимости от отсутствия (благоприятный исход) или наличия рецидива повышения внутриглазного давления (ВГД) после ГСЭ, связанного с избыточным послеоперационным рубцеванием (неблагоприятный исход).

Благоприятный исход в отношении стойкой гипотензивной эффективности ГСЭ был отмечен у 17 (73,9 %) из 23 больных. Неблагоприят-

ный исход, выражающийся в рецидиве повышения ВГД после ГСЭ наблюдался у 6 пациентов (26,1 %) (у 4 пациентов – через 3–4 месяца и у 2 – спустя 5 месяцев после операции), из них у 2 больных – со II стадией и 4 – с III стадией ПОУГ. При этом, у 3 пациентов офтальмотонус удалось стойко компенсировать с помощью местной терапии, а у 3 больных после 2–3 месячного гипотензивного лечения пришлось прибегнуть к реоперации.

Дооперационный уровень TGF β2 в СК и СЖ у больных ПОУГ как с последующим благоприятным, так и неблагоприятным исходами хирургического лечения был достоверно выше ($p \leq 0,05$) такового у практически здоровых лиц. При этом, повышенное содержание изучаемого фактора роста было отмечено соответственно в 86,9 % (у 20 из 23 пациентов) и 95,6 % (у 22 из 23) случаев. Динамика изменения уровня TGF β2 в СК при различном исходе операции отличалась (рис. 1).

До операции концентрация данного цитокина в группе пациентов с благоприятным исходом хирургического лечения ПОУГ была существенно выше ($p \leq 0,05$), чем у больных с неблагоприятным результатом. В дальнейшем в этой группе пациентов в течение 3 месяцев отмечалась тенденция к снижению уровня TGF-β2, который к 6 месяцу после операции достиг минимального значения, достоверно ($p \leq 0,05$) отличаясь при этом от дооперационного уровня и нормы, а также, хотя и в меньшей степени ($p \leq 0,05$), от показателя, зафиксированного через 3 месяца после ГСЭ.

Напротив, в группе больных с рецидивом повышения ВГД в послеоперационном периоде наблюдалось повышение концентрации TGF

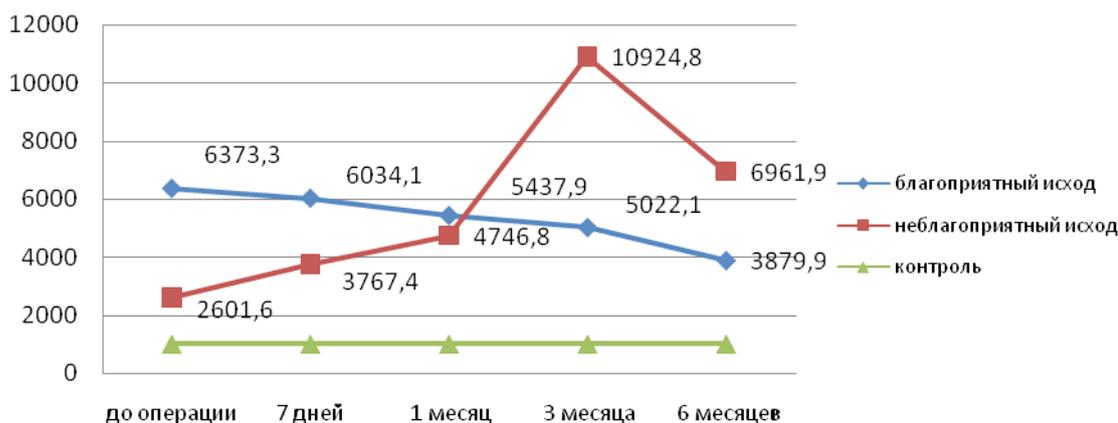


Рисунок 1. Содержание TGF-β2 в сыворотке крови в зависимости от исхода антиглаукомной операции, пг/мл.



Рисунок 2. Содержание TGF-β2 в слезной жидкости в зависимости от исхода антиглаукомной операции, пг/мл

β2 с максимумом, отмеченном через 3 месяца, и последующим существенным снижением ($p \leq 0,05$) к 6 месяцам. Причем к концу наблюдения, содержание изучаемого фактора роста оказалось значительно выше ($p \leq 0,05$) такового в контроле.

Уровень TGF-β2 в СЖ в группе пациентов с рецидивом повышения ВГД вследствие избыточного послеоперационного рубцевания был максимальным до операции и существенно превышал ($p \leq 0,05$) аналогичный показатель, отмеченный в группе больных с благоприятным исходом хирургического лечения ПОУГ.

В послеоперационном периоде изменение содержания изучаемого цитокина в СЖ в сравниваемых группах (с благоприятным и неблаго-

приятным исходом) происходило неодинаково (рис. 2). В группе пациентов с неблагоприятным исходом антиглаукоматозных операций через 7 дней уровень TGF-β2 в сравнении с дооперационным существенно не изменился, но через 1 месяц после операции было зафиксировано существенное снижение ($p \leq 0,05$) его концентрации с последующим повышением.

При этом, через полгода уровень TGF-β2 в СЖ оставался достоверно ниже ($p \leq 0,05$) дооперационного показателя, но значительно выше ($p \leq 0,05$) контроля.

Благоприятный исход ГСЭ сопровождался повышением уровня TGF-β2 через 1 месяц после операции с последующим достоверным снижением ($p \leq 0,05$). При этом, показатель из-

учаемого фактора роста через 6 месяцев после ГСЭ остался значительно ниже ($p \leq 0,05$) дооперационного уровня и значения, зафиксированного в этот же срок в группе с неблагоприятным исходом антиглаукомной операции, но был достоверно выше контроля.

Проведенный анализ показал, что у 18 (78,3 %) из 23 больных ПОУГ уровень TGF-β2 в СЖ в дооперационном периоде находился в пределах 711–15000 пг/мл. При этом, у 16 (88,9 %) из них послеоперационный период протекал благоприятно с формированием умеренно разлитой фильтрационной подушки и нормализацией офтальмотонуса без гипотензивных капель, сопровождающейся стабилизацией зрительных функций (остроты и поля зрения). Только у 2 (11,1 %) больных послеоперационное течение заболевания характеризовалось как неблагоприятное, т. к. уже через 3-4 месяца после хирургического лечения у них отмечали повышение ВГД до 30–32 мм рт. ст. (на пневмотонометре) на фоне медикаментов, отсутствие или наличие плоской и ограниченной фильтрационной подушки. В связи с неблагоприятным исходом хирургического лечения и ухудшением полей зрения больным была проведена реоперация.

У 5 (21,7 %) из 23 больных глаукомой концентрация TGF-β2 в СЖ в дооперационном периоде составила более 15000 пг/мл. При этом, у 4 (80 %) из них в сроки 3,5–5 месяцев наблю-

дали неблагоприятное послеоперационное течение, характеризующееся повышением ВГД до 26 и 30 мм рт. ст. и формированием плоской фильтрационной подушки, ухудшением полей зрения. У 1 (20 %) пациента исход оперативного лечения глаукомы был благоприятным с нормализацией ВГД и стабильным состоянием зрительных функций.

Таким образом, определение концентрации TGF-β2 может использоваться для прогноза неблагоприятного исхода оперативного лечения глаукомы с развитием рецидива повышения ВГД. Данный прогноз оказался достоверным у 20 из 23 больных, т. е. в 87 % случаев.

Вывод.

У оперированных больных с продвинутыми стадиями ПОУГ выявлен повышенный уровень TGF-β2 в сыворотке крови и слезной жидкости.

Рецидив повышения ВГД вследствие избыточного послеоперационного рубцевания сопровождался повышением уровня TGF-β2 с максимальной концентрацией в сыворотке крови через 3 месяца после проникающей ГСЭ.

Высокий (более 15000 пг/мл) локальный дооперационный уровень TGF-β2 может использоваться в качестве прогностического маркера раннего избыточного послеоперационного рубцевания вновь созданных путей оттока внутриглазной жидкости.

10.09.2015

Список литературы:

1. Василенкова Л.В., Ганковская Л.В., Калинина О.М. Локальная цитокиноterapia при фистулизирующих антиглаукоматозных операциях // Сб. науч. ст. «Офтальмоиммунология. Итоги и перспективы». – М., 2007. – С. 79-84.
2. Захидов А.Б. Комбинированное хирургическое лечение первичной открытоугольной глаукомы с локальной иммунокоррекцией репаративных процессов: Автореф. ... канд. мед. наук, М., 2010. – 20 с.
3. Курышева Н.И., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В. и др. Иммунологические аспекты избыточного рубцевания тканей глаза после антиглаукоматозных операций. – Матер. III Евро-Азиатской конф. по офтальмохирургии. – Екатеринбург, 2003. – С. 79-80.
4. Лебедев О.И., Суворов А.В. Иммуные механизмы регуляции репаративных процессов после антиглаукоматозных операций // Сб. науч. ст. «Офтальмоиммунология. Итоги и перспективы». – М., 2007. – С. 163-165.
5. Ловпаче Д.Н. Клинико-иммунологическое прогнозирование и хирургическая профилактика избыточного рубцевания после антиглаукоматозных операций: Автореф. ... канд. мед. наук, М., 2000. – 25 с.
6. Wax M., Barrett D., Pestronk A. Increased incidence of paraproteinemia and autoantibodies in patients with glaucoma // Invest. Ophthalmol. – 1994. – Vol. 117. – P. 561-568.
7. Priglinger S.G., Alge C.S., Kook D., Thiel M., Schumann R., Eibl K. Potential role of tissue transglutaminase in glaucoma filtering surgery // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – Vol. 47. – № 9. – P. 3835-3845.
8. Ходжаев Н.С., Нерсесов Ю.Э., Захидов А.Б. Антипролиферативный эффект локальной цитокинотерапии в экспериментальной модели антиглаукоматозной операции // Федоровские чтения – 2009: науч.-практ. конф. с междунар. участием, 8-я: Сб. науч. ст. – М., 2009. – С. 225-226.
9. Cvenkel B., Kopitar A.N., Ihan A. Inflammatory molecules in aqueous humor and on ocular surface and glaucoma surgery outcome // Mediators Inflamm. – 2010. – Vol. 102. – № 7. – P. 902-1007.
10. Meyer-Ter-Vehn T., Grehn F., Schlunck G. Localization of TGF-beta type II receptor and ED-A fibronectin in normal conjunctiva and failed filtering blebs // Mol. Vis. – 2008. – Vol. 25. – No. 14. – P. 136-141.
11. Дугина А.Е. Особенности течения постоперационного периода и роль противомикробных пептидов и интерлейкина-17 в раневом процессе при хирургическом лечении больных первичной открытоугольной глаукомой: Автореф. ... канд. мед. наук, М., 2010. – 23 с.

12. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В. и др. Изменение некоторых иммунологических показателей слезной жидкости при избыточном рубцевании после антиглаукоматозных операций у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / Вестн. офтальмол. – 2010. – Т.126. – №3. – С. 25-29.
13. Ганковская Л.В., Еричев В.П. Цитокинотерапия репаративных процессов при антиглаукоматозных операциях // Сб. трудов РГМУ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии» – М., 1998. – С. 756.
14. Тахчиди Е.Х. Клинико-патогенетическое обоснование микроинвазивной непроникающей глубокой склерэктомии в хирургии первичной открытоугольной глаукомой: Автореф. ... канд.мед.наук, М., 2008. – 23 с.
15. Василенкова Л.В. Коррекция репаративных процессов методом локальной цитокинотерапии при антиглаукоматозных операциях: Автореф. ... канд.мед.наук, М., 2005. – 24 с.

Сведения об авторах:

Шевчук Наталья Евгеньевна, заместитель директора по научно-производственной работе
Уфимского научно-исследовательского института глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан,
доктор медицинских наук, ufaeyenauka@mail.ru, тел./факс: 272-37-75

Бабушкин Александр Эдуардович, заведующий отделом научных исследований
Уфимского научно-исследовательского института глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан,
доктор медицинских наук, virologicdep@mail.ru, тел.: 2545266

Оренбуркина Ольга Ивановна, врач-офтальмолог Уфимского научно-исследовательского института глазных
болезней Академии наук Республики Башкортостан, кандидат медицинских наук, linza7@yandex.ru

Матюхина Екатерина Николаевна, научный сотрудник отделения витреоретинальной и лазерной хирургии
Уфимского научно-исследовательского института глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан,
ufaeyenauka@mail.ru, тел./факс: 272-37-75

450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Пушкина д. 90,