

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДІОДНОЇ ЛАЗЕРНОЇ ТРАБЕКУЛОПЛАСТИКИ У РЕЖИМІ МІКРОПУЛЬСУ *AB EXTERNO* НА ВМІСТ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ β 2 У ВОЛОЗІ ПЕРЕДНЬОЇ КАМЕРИ ОКА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ВІДКРИТОКУТОВОЮ ПЕРВИННОЮ ГЛАУКОМОЮ

Л. М. Рудавська¹, лікар, **Р. С. Стойка²**, д. біол. н., проф.,

О. Ю. Ключівська², пров. інж., **І. Я. Новицький¹**, д. мед. н., проф.

1 — Львівський національний медичний університет

2 — Інститут біології клітини НАН України, Львів

*Под нашим наблюдением находились 34 пациента с некомпенсированной первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ). Первая группа — основная состояла из 17 пациентов (17 глаз), которым была проведена одномоментная неперфорирующая глубокая склерэктомия в комбинации с диодной лазерной трабекулопластикой *ab externo* в режиме микропульса; 17 пациентов (17 глаз) контрольной группы перенесли глубокую неперфорирующую склерэктомию. После аспирации влаги передней камеры определяли показатели активной формы трансформирующего фактора роста β 2 (ТФР β 2). Определено достоверное увеличение показателей уровня ТФР β 2 во влаге передней камеры после импульсного лазерного облучения из (53.79 ± 23.13) пг/мл до (66.72 ± 26.41) пг/мл ($p < 0,05$). Средние показатели ВГД у пациентов основной группы через год после операции снизились с $(28,11 \pm 2,31)$ мм рт. ст. до $(16,51 \pm 1,32)$ мм рт. ст. В контрольной группе показатели ВГД составляли $(27,19 \pm 1,73)$ мм.рт.ст. и $17,80 \pm 1,50$ соответственно. Диодная лазерная трабекулопластика в режиме микропульса приводит к увеличению концентрации ТФР β 2, что вероятно вызывает локальную иммуносупрессию и способствует эффективному и качественному заживлению трабекулярной ткани после оперативного лечения.*

Ключові слова: відкритокутова глаукома, глибока непроникаюча склеректомія, лазерна трабекулопластика, внутрішньоочний тиск, трансформуючий фактор росту бета 2, позаклітинний матрикс.

Ключевые слова: открытоугольная глаукома, глубокая неперфорирующая склерэктомия, лазерная трабекулопластика, внутриглазное давление, трансформирующий фактор роста бета 2, внеклеточный матрикс.

Вступ. При лікуванні пацієнтів із первинною відкритокутовою глаукомою (ПВКГ) все більшу актуальність набуває застосування лазерної трабекулопластики для зниження внутрішньоочного тиску (ВОТ). Цей метод за десятиліття використаня показав себе ефективним та безпечним [3]. На сьогоднішній день при лікуванні пацієнтів із ПВКГ в офтальмології застосовується декілька типів лазерів: аргоновий лазер (аргон-лазерна трабекулопластика — АЛТ), Q-switched Nd:YAG (селективна лазерна трабекулопластика — СЛТ) та діодний лазер у режимі мікропульсу (мікропульсова діодна лазерна трабекулопластика — МДТП). До сьогоднішнього часу докладний механізм гіпотензивної дії лазеру не вивчений. Вважається, що внаслідок впливу лазерної енергії на клітини трабекули запускаються механізми, які викликають поділ клітин [3, 4]. У той же час не виключений вплив лазера на ремоделювання юкстаканалікулярного позаклітинного матриксу (ПКМ), що може призводити до посилення відтоку водянистої вологи з ока. Позаклітинний матрикс постійно змінюється під впливом складних біохімічних механізмів [4]. Серед головних біохімічних

регуляторних чинників у передній камері, що впливають на ремоделювання ПКМ, слід назвати лужний фактор росту фібробластів і трансформуючий фактор росту (ТФР) β -типу. ТФР β належить до родини цитокінів плейотропної дії, котрий в організмі бере участь у регуляції проліферації, апоптозу та модуляції імунної системи. Його вплив на ті ж самі тканини та клітини залежить від взаємодії з іншими цитокінами [5–8]. Усі форми ТФР β існують у біологічно неактивному стані й активуються по мірі потреби їх використання [7]. У пацієнтів із ПВКГ спостерігається підвищений рівень ТФР β 2 у волозі передньої камери та у реактивних астроцитах зорового нерва [8]. Діагностично-прогностичне значення цього показника, а також його динаміка після проведення діодної лазерної трабекулопластики у режимі мікропульсу не вивчалися.

Мета роботи: вивчити вплив діодної лазерної трабекулопластики у режимі мікропульсу *ab externo* у хворих із некомпенсованою ПВКГ на концентра-

цію ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери, та визначити ефективність поєднаного хірургічного лікування та лазерної трабекулопластики у вказаному режимі у даних пацієнтів.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під нашим спостереженням перебувало 34 пацієнти. Хворі були поділені на дві групи: основна (17 пацієнтів, 17 очей) та контрольна (17 пацієнтів, 17 очей). Обидві групи були однорідними за віком, стадією глаукоми, рівнем ВОТ. Середній вік хворих становив $(71,5 \pm 8,2)$ рік, 18 чоловіків та 16 жінок. У 55 % очей діагностовано II стадію захворювання, у 35 % очей — III стадію та у 10 % очей — IV стадію глаукоми. Усі пацієнти отримували максимально переносиму медикаментозну терапію. Переважна більшість пацієнтів одержувала комбіновану терапію, котра складалася з аналогів простагландинів, бета-блокаторів та інгібіторів карбоангідрази. У основній групі пацієнтам було проведено операцію глибоку непроникаючу склеректомію та додатково здійснено лазерну діодну трабекулопластику інтраопераційно *ab externo* (патент на корисну модель № 53536 від 11.10.2010) [1]. Пацієнтам контрольної групи проведено лише глибоку непроникаючу склеректомію.

У випадку комбінованої операції у пацієнтів основної групи після видалення юкстаканалікулярної частини трабекули проводили лазерну коагуляцію увеосклеральної частини трабекули, яка залишилась, зондом для ендолазеркоагуляції у режимі мікропульсу із наступними параметрами: діаметр лазерної плями — 300 мкм, потужність 2000 мВт, цикл 15 %, кількість аплікацій — 30.

Для отримання вологи передньої камери після парцентезу рогівки, канюлею проводилась аспірація в об'ємі 0,1 мл у мікрочашку, котру відразу поміщали у морозильну камеру із температурою -20°C . В обох групах аспірацію вологи передньої камери проводили в кінці операції (10 хвилин після лазерної коагуляції).

Імуноензимний аналіз вмісту ТФР $\beta 2$. Для кількісного визначення вмісту активної форми ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери використовували набори реактивів фірми DIACLONE (Серія 4–01/10/2009, США). При цьому дотримувались стандартних протоколів фірми-виробника. Принцип методу: волога передньої камери поміщалась у лунки із адсорбованими на дні антитілами (антитіло-1), у результаті чого утворюється комплекс: ТФР $\beta 2$ -антитіло-1. Після наступної інкубації у лунки додавались моноклональні анти-ТФР $\beta 2$ антитіла, кон'юговані із біотином, котрі у свою чергу зв'язувались із утвореним комплексом ТФР $\beta 2$ -антитіло 1. У відповідності із протоколом проводилась повторна інкубація та видалення незв'язаного моноклонального біотину ТФР $\beta 2$. У створений комплекс додавалась пероксидаза хрому для забезпечення кольорової біохімічної реакції. Кількісні показники ТФР $\beta 2$ визначали на мультиканальному мікрофотометрі БіоТек 76883 (США).

Клінічно кожному пацієнту проводили стандартні методи обстеження: візометрія, біомікроскопія переднього і заднього відрізків ока, тонометрія і тонографія до і після операції.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. У ранньому післяопераційному періоді ускладнень не спостерігалось. У 17 пацієнтів основної групи ВОТ до операції становив $(28,11 \pm 2,31)$ мм рт. ст., коефіцієнт легкості відтоку (КЛО) — $0,13 \pm 0,04$. На 7-ий день після операції середні ВОТ

знизилися до $(16,18 \pm 0,72)$ мм рт. ст. Через 6 місяців після операції ВОТ становив у середньому $(16,32 \pm 1,21)$ мм рт. ст і через рік рівень ВОТ практично не змінився: $(16,51 \pm 1,32)$ мм рт. ст, КЛО = $0,35 \pm 0,03$ ($p < 0,05$). Двоє пацієнтів для нормалізації додатково приймали ВОТ інстиляції аналогів простагландинів.

У контрольній групі до операції ВОТ у середньому становив $(27,19 \pm 1,73)$ мм.рт.ст., КЛО = $0,14 \pm 0,02$. Через тиждень після операції рівень ВОТ знизилися до $17,19 \pm 0,23$ ($p < 0,001$). Через 6 місяців після операції ВОТ зберігався на такому ж рівні $17,51 \pm 0,52$, як і через 12 місяців $17,80 \pm 1,50$ при КЛО рівному $0,24 \pm 0,05$ ($p < 0,05$). Для нормалізації ВОТ через рік після операції троє пацієнтів використовували інстиляції аналогів простагландинів.

Середнє значення вмісту ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери пацієнтів основної групи становило $66,72 \pm 26,41$ пг/мл, а у водянистій волозі контрольної групи — $53,79 \pm 23,13$ пг/мл. Таким чином виявлено помітно вищу концентрацію ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери ($p < 0,05$) після імпульсного лазерного опромінення у порівнянні з контрольною групою. На основі цього можливо стверджувати, що найбільш імовірним молекулярним механізмом, що приводить до зростання концентрації ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери очного яблука після мікроімпульсної лазерної терапії є локальне підвищення температури опроміненої тканини [2], що не призводить до її пошкодження завдяки особливості мікропульсового випромінювання. Саме підвищення рівня цього цитокіну в волозі передньої камері вказує на mediaцію ним процесів ремодуляції ПКМ у трабекулі.

Ймовірний ефект дії ТФР $\beta 2$ на ендотеліальні клітини, з яких і утворена трабекулярна сітка [9], може полягати у потужній локальній імуносупресорній функції, що є критично необхідною умовою для уникнення швидкого рубцювання та значного протизапального ефекту. Імуносупресорні механізми ТФР $\beta 2$ проявляються через потужну індукцію апоптозу В- та Т-лімфоцитів, що і призводить до зниження запальної реакції, та відповідно до зниження ВОТ [10].

ВИСНОВКИ

1. Нормалізація рівня внутрішньоочного тиску та коефіцієнту легкості відтоку свідчать про високу ефективність діодної лазерної трабекулопластики *ab externo* у режимі мікропульсу в комбінації з ГМС при оперативному лікуванні первинної відкритокутової глаукоми.

2. Мікропульсова діодна лазерна трабекулопластика призводить до зростання концентрації ТФР $\beta 2$ у волозі передньої камери очного яблука, що ймовірно викликає локальний імуносупресор-

ний вплив та сприяє підвищенню функціональної здібності трабекулярної тканини після проведення запланованого комбінованого оперативного втручання.

Таблиця 1

Кількісні показники вмісту ТФР β2

№	Кількісні показники ТФРβ2 у водянистій волозі передньої камери пацієнтів основної групи, пг/мл	Кількісні показники ТФРβ2 у водянистій волозі передньої у пацієнтів контрольної групи, пг/мл
1	59,54	46,70
2	137,33	49,44
3	34,31	34,31
4	55,37	34,65
5	85,56	82,69
6	53,31	43,78
7	49,84	42,91
8	73,83	36,18
9	88,62	103,68
10	28,31	37,65
11	53,37	47,37
12	54,91	58,5
13	63,98	45,91
14	58,76	28,51
15	70,64	68,63
16	88,14	99,75
17	100,70	39,26
Середні значення	66,72±26,41	53,79 ±23,13

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат.53536 Україна, МПК А61F9/007 А61N5/00. Спосіб хірургічного лікування відкритокутової глаукоми у комбінації із лазерною трабекулопластиком аб

externo у режимі мікропульсу / Заявник і патентовласник: І. Я. Новицький, Л.М Рудавська; Львівський нац. мед.ун-т імені Данила Галицького — № u201004236; заявл. 09.04.2010 р. Бюл № 19.

2. **Корчинський А. Г.** Тепловой шок модулирует способность клеток линии А-549 из аденокарциномы легкого человека аутокринно регулировать интенсивность биосинтеза ДНК и белков / А. Г. Корчинський, Р. С. Стойка., С. И. Кусень // Биохимия. — 1992. — № 11. — С. 1612–1647.

3. **Reiss G. R.** Laser trabeculoplasty. Major review / G. R. Reiss, J. T. Wilensky, E. J. Higginbotham // Surv.Ophthalmol. — 1991. — Vol. 35. — P. 407–428.

4. **Tamm E. R.** What Increases Outflow Resistance in Primary Open-angle Glaucoma? / E. R. Tamm, R. Fuchshofer // Surv. Ophthalmol. — 2007. — Vol. 52. — P. 101–104.

5. Transforming growth factor-beta in human aqueous humor / Jampel H. D., Roche N, Stark W.J, Roberts A.B // Curr Eye Res. — 1990. — Vol. 9. — P. 963–969.

6. **Acott T. S.** Biochemistry of aqueous humor outflow / T. S. Acott, P. L Kaufman, T. W. Mittag // Glaucoma. — 1991. — Vol. 7. — P.147–178.

7. **Roberts A. B.** Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta) / A. B. Roberts, M. B. Sporn // Growth Factors. — 1993. — Vol. 8. — P. 1–9.

8. **Inatani M.** Transforming growth factor-b2 levels in aqueous humor of glaucomatous eyes /M.Inatani, H.Tanihara H, H.Katsuta [et al.] // Graefes Arch Clin Exp Ophtalmol. — 2001. — Vol. 239. — P. 109–113.

9. **Llobet A.** Understanding trabecular meshwork physiology: a key to the control of intraocular pressure? / A. Llobet, X. Gasull, A. Gual // News Physiol Sci. — 2003. — Vol. 18. — P. 205–209.

10. **De Gorter D. J. J.** Biphasic effects of transforming growth factor-β on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation / D. J. J. De Gorter, M van Dinther, O. Korchynski [et al.] // Bone Mineral Res. — 2011. — Vol. 6. — P. 1178–1187.

THE ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF DIODE LASER TRABECULOPLASTY AB EXTERNO ON THE LEVEL OF THE TRANSFORMING GROWTH FACTOR IN THE AQUEOUS HUMOR OF THE ANTERIOR CHAMBER IN PATIENTS WITH OPEN ANGLE GLAUCOMA

Rudavskaya L. M., Stoika R. S., Klyuchevskaya O. Yu., Novytskyi Ya., Lvov

Ukraine

Thirty four patients (34 eyes) with uncontrolled open-angle glaucoma were under treatment. The patients were divided into two groups. Seventeen patients (17 eyes) — the main group — underwent deep sclerectomy combined with diode laser trabeculoplasty ab externo. After aspiration of the aqueous humor of the anterior chamber the level of the transforming growth factor β 2 (TGF β2) was analyzed. The mean TGF β2 level was significantly (p<0,05) higher in the patients in the main group in comparison to the patients of the control group and consisted of 66.72±26.41 pg/ml and 53.79±23.13 pg/ml respectively. The mean level of the intraocular pressure (IOP) in the main group was 28,11±2,31 mm Hg before the surgery and in a year of follow up the number decreased to 16,51±1,32 mm.Hg. In the control the figures were as follows: 27,19±1,73 mm Hg and 17,80±1,50 mmHg accordingly. Micropulse laser trabeculoplasty leads to increasing of the TGF β2 level what can inhibit local immune system and cause more effective and smooth healing of the trabecular meshwork after the surgery.

