

РОЛЬ СИСТЕМИ АНГІОПОЕТИНІВ У ВИНИКНЕННІ ГЕМОФТАЛЬМУ ПІСЛЯ ВІТРЕОРЕТИНАЛЬНИХ ВТРУЧАНЬ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (м. Київ, Україна)

lytvinenko1995@gmail.com

Цукровий діабет (ЦД) – метаболічне захворювання, яке супроводжує постійна гіперглікемія, що займає 4 місце в світі за захворюваністю. За даними Міжнародної федерації діабету до 2045 року кількість хворих на ЦД збільшиться в 1,5 рази. Основа на маса людей (90%), що страждають на ЦД мають 2 тип, який характеризується відносною недостатчею інсуліну або порушенням його секреції на фоні інсулінорезистентності, що і призводить до хронічної гіперглікемії. Найбільшу схильність до первинного ураження в умовах хронічної гіперглікемії мають клітини, що формують високоспеціалізовані структури ока, а саме: нейроти, періцити, ендотеліоцити, глія. Ураження цих клітин призводить до розвитку діабетичної ретинопатії (ДР). Мікросудинна патологія, притаманна ДР, може мати серйозні цереброваскулярні наслідки, які супроводжуються поширеними крововиливами. Основною причиною розвитку гемофтальму у пацієнтів з ЦД2 є розвиток проліферативної стадії діабетичної ретинопатії (ПДР). Гемофтальм посідає одне з перших місць серед усіх інтра- та післяопераційних ускладнень ока через мікроциркуляторні порушення як передніх, так і задніх сегментів ока. У пацієнтів з ЦД2 крововилив у вітреальну порожнину є найбільш розповсюдженим ускладненням після або під час виконання сучасних методів вітректомії і спостерігається від 12% до 63%. При цьому кров у вітреальній порожнині в таких випадках не має тенденції до спонтанного очищення через зниження тону капілярів та інших мікросудинних ускладнень. Тому вивчення ролі системи ангіопоетинів у виникненні гемофтальму після сучасних вітреоретинальних втручань при діабетичній ретинопатії та цукровому діабет 2 типу є вельми актуальним для сучасної офтальмології.

Ключові слова: закрыта субтотальна вітректомія, післяопераційний гемофтальм, ангіопоетини, діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2 типу.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» (№ держреєстрації 0116U002821, 2016-2020 рр.).

Вступ. За даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF), за останню чверть століття кількість пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) збільшилася більш ніж у 4 рази. В літературі є дані про ріст числа таких пацієнтів до 2045 року на 32%. В останнє десятиріччя спостерігається збільшення числа пацієнтів з ЦД як першого, так і другого типу (ЦД2), що має характер найбільшої неінфекційної пандемії [1, 2].

Серед літніх людей із ЦД близько 90% пацієнтів хворі на ЦД2. У США поширеність ЦД2 у населення віком 65 років і далі становить 33%, а предіабету – 50%, первинна захворюваність ЦД2 досягає максимальних показників в осіб віком від 65 до 79 років [3].

Діабетична ретинопатія (ДР) – неспецифічне судинне ускладнення ЦД як першого, так і другого типу, яке нерідко призводить до слабкості і сліпоти [4]. Відомо, що у пацієнтів ДР та ЦД2 найбільш частою причиною зниження та втрати центрального зору є діабетична макулопатія (ДМП). Відомо, що для лікування важких та стійких до консервативного та лазерного лікування, а також анти-VEGF-терапії форм ДР та ДМП застосовують вітреоретинальні втручання [5, 6].

Ангіопоетини (Ang) представляють сімейство факторів росту, які регулюють ендотеліальний сигнальний шлях, проникність судинної стінки та її ремоделювання, ангіогенез [7]. Ang-1 – природний активатор тирозин-протеїн кіназного рецептору-2 (TIE-2), є білком довжиною 498 амінокислотних залишків, який приблизно на 60% ідентичний своєму гомологу Ang-2. Ang-1 сприяє дозріванню судин, має стабілізуючу дію щодо новоутворених судин, знижує їх проникність і послаблює фіброз [8]. Активність Ang-2 залежить від експресії васкулоендотеліального фактора росту (VEGF), при зниженні концентрації останнього Ang-2 порушує нормальний зв'язок між ендотеліальними клітинами, що призводить до швидкого підвищення проникності судин з виходом плазми і білків крові в позасудинний простір [9]. Є дані, що рівень Ang-1 у скловидному тілі при ПДР суттєво збільшений [10]. Експериментально доведено, що введення Ang-1 у склоподібне тіло щурів з діабетом, нормалізувало VEGF і рівні мРНК, білка молекули міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1), що призводило до зниження адгезії лейкоцитів, пошкодження ендотеліальних клітин і руйнування гемато-ретинального бар'єру [11].

На відміну від Ang-1, Ang-2 є негативним модулятором активності TIE-2, який індукується гіпоксією та ішемією та призводить до інактивації TIE-2. Пригнічення Ang-1 дестабілізує судинну мережу ока, підвищує чутливість до VEGF і інших запальних цитокінів, що збільшує проникність вітреоретинального бар'єру [12].

Можна припустити, що в при ДР та ЦД2 формується патологічне коло за участю Ang-1 і Ang-2, що може мати значення для судинних порушень у сітківці при ДР та, зокрема, для розвитку геморагічних ускладнень і післяопераційного гемофтальму зокрема.

Мета дослідження – визначити роль системи ангіопоетинів у виникненні гемофтальму після вітрео-

ретинальних втручань при діабетичній ретинопатії та цукровому діабет 2 типу.

Об'єкт і методи дослідження. Під нашим спостереженням перебувало 118 пацієнтів (118 очей) з ДР та ЦД2, яких було розподілено на групи: 1-а – з непроліферативною початковою ДР (НПДР; 28 очей), 2-а – з помірною або тяжкою НПДР (49 очей) та 3-я – з проліферативною ДР (ПДР; 41 око). В ряді випадків у пацієнтів визначалася ДМП. Вік пацієнтів склав від 44 до 84 років, в середньому 63,8±8,9 років. Чоловіків було 52 (44,1%), жінок – 66 (55,9%).

Тривалість ЦД2 у пацієнтів склала від 4 до 45 років, по групам: в 1-й групі – від 4 до 21 року (Me 10; QI-QIII 5,5-14,5); в 2-й – від 4 до 45 років, (Me 15; QI-QIII 10-20); у 3-й – від 10 до 35 років (Me 20; QI-QIII 15-20,25). Легкий перебіг ЦД2 не було виявлено в жодного пацієнта; середня ступінь тяжкості з такими ускладненнями, як полінейропатія та нефропатія 1 ступеню – у 73 (61,9%) і тяжкий перебіг ЦД2 з наявністю нефро- та нейропатії 2-3 ступеню та макроангіопатії – у 45 (38,1%).

Пацієнтам виконали стандартні лабораторні обстеження з визначенням рівнів в крові глюкози та глікованого гемоглобіну (HbA1c), консультували у ендокринолога для визначення ступеня компенсації ЦД2 за рівнем глікемії і глікованого гемоглобіну та тяжкості ЦД2 відповідно до клінічних протоколів [13]. Ступінь компенсації ЦД2 за рівнем HbA1c оцінювали за трибальною шкалою: 1 – повна компенсація (вміст HbA1c до 7%), 2 – задовільна компенсація (вміст HbA1c від 7% до 8%) і 3 – декомпенсація (вміст HbA1c більше 8%).

До оперативного втручання, а також протягом перших трьох місяців всім пацієнтам проводили загальноприйнятні офтальмологічні дослідження, що включали візіометрію, тонометрію, периметрію, кератометрію, рефрактометрію, біомікроскопію, гоніоскопію. Офтальмоскопію виконували за допомогою асферичної лінзи Volk Super /Field (NC USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана. Спектрально-нормальну оптичну когерентну томографію (ОКТ) проводили на приладі Optopoltechnology, SOCT, Copernicus REVO (протокол Retina3D, RetinaRaster); також використовували ОКТ в режимі «Ангіо» (протокол RetinaAngio, wide 6x6 mm). Дослідження очного дна проводили на фундус-камері з фотографуванням в 7 стандартних полях відповідно до модифікованої ETDRS системи клінічних ознак AirlieHouse [14].

Таблиця 1 – Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 в контролі та у пацієнтів різних груп; Me (Q_I-Q_{III})

Показник	Контроль (n=31)	Група			p
		1-а (n=28)	2-а (n=49)	3-я (n=41)	
Ang-1, пг/мл	90,0 ^{1,2,3} (51,0-106,5)	509,5 ³ (302,0-584,0)	654,0 ³ (499,0-753,8)	917,0 ^{1,2} (811,5-1036,0)	<0,001
Ang-2, пг/мл	262,0 ^{2,3} (198,3-309,0)	1075,5 ^{2,3} (929,5-1184,5)	2450,0 ^{1,3} (1861,8-2840,3)	4430 ^{1,2} (3900,0-4828,5)	<0,001
Ang-2/Ang-1	3,15 ³ (2,51-3,81)	2,15 ^{2,3} (1,85-2,78)	4,05 ¹ (3,14-5,19)	4,72 ¹ (4,06-5,76)	<0,001

Примітки: при проведенні порівнянь використано критерій Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння проводилися за критерієм Данна: ¹ – відмінність від 1-ї групи статистично значима (p<0,05); ² – відмінність від 2-ї групи статистично значима (p<0,05); ³ – відмінність від 3-ї групи статистично значима (p<0,05).

Внутрішньоочний тиск знаходився у межах норми та становив від 16 до 25 мм рт. ст. (в середньому – 19,5±1,25 мм рт. ст.).

Всім пацієнтам була виконана закрита субтотальна вітректомія 25G з етапом панретинальної лазерної коагуляції (ПРЛК) та тампонадою газо-повітряною сумішшю 18% C3F8 або залишали у вітреальної порожнині розчин BSS plus.

У пробі склоподібного тіла (СТ), яке було отримано під час оперативного втручання, методом імуноферментного аналізу проводили визначення вмісту ангіопетинів (Ang-1 та Ang-2) з використанням наборів реактивів «RnD Systems» (Міннеаполіс, Міннесота, США). Розраховували співвідношення вмісту ангіопетинів (Ang-2/Ang-1).

Всі дослідження проведені з дотриманням положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.). Всі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Аналіз результатів дослідження проводили в пакеті EZR v.1.54 (графічний інтерфейс до R statistical software v.4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [15]. При проведенні аналізу кількісних ознак проводили перевірку розподілу показників на нормальність за критерієм Шапіро-Уїлка. Для представлення кількісних показників вмісту ангіопетинів у випадку закону розподілу, відмінного від нормального, розраховували медіанне значення (Me) та міжквартильний інтервал (QI-QIII). При проведенні порівняння кількісних ознак в більше ніж двох групах у випадку закону розподілу відмінного від нормального, використано критерій Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння проводили за критерієм Данна. При проведенні порівняння у двох групах використано критерій Манна-Уїтні (закон розподілу відрізняється від нормального). Для аналізу зв'язку між кількісними ознаками використані методи кореляційного аналізу, розраховували показник рангової кореляції Спірмена. При проведенні статистичного аналізу критичний рівень значимості прийнятий рівним 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення. Вміст у СТ ангіопетинів у пацієнтів з ДР та ЦД2 був багаторазово збільшеним (у 4,1-16,9 рази) в порівнянні з контролем, що відображає **табл. 1**. Була відмічена тенденція до його зростання по групам пацієнтів, тобто – у залежності від стадії ДР. Так, якщо у 1-й групі (при початковій НПДР) вміст Ang-1 перевищував контроль у 5,7 рази, то у 2-й групі (при помірній або тяжкій НПДР) – у 7,3 рази, а у 3-й групі (при ПДР) – вже у 10,2 рази (p<0,001).

Така ж тенденція була характерна й для вмісту у СТ Ang-2, який при початковій НПДР перевищував контроль у 4,1 рази, при помірній або тяжкій НПДР – у 9,4 рази, а при ПДР – у 16,9 рази (p<0,001).

Необхідно відзначити, що відносний до контролю приріст вмісту у СТ ангіопетинів, був більшим для Ang-2,

що віддзеркалилося у збільшенні відношення Ang-2/Ang-1 у 3-й групі у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

За статтю вміст ангіопетинів суттєво не відрізнявся. Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у пацієнтів з ДР та ЦД2 у залежності від статі (Me (Q_I-Q_{III})) представлено в **табл. 2**. Це також було підтверджено і при порівнянні показників по всіх групах хворих ($p > 0,1$ у всіх випадках).

У даному дослідженні прийняли участь пацієнти із середнім та тяжким перебігом ЦД2. Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у залежності від тяжкості перебігу ЦД2 (Me (Q_I-Q_{III})) представлено в **табл. 3**. Як видно з **табл. 3**, пацієнти з 3-м ступенем (тяжкий перебіг ЦД2) мали більший вміст обох ангіопетинів у порівнянні із 2-м ступенем тяжкості. Це особливо стосувалося Ang-2, вміст якого у пацієнтів з тяжким перебігом ЦД2 перевищував такий у пацієнтів із середнім у 2,5 рази ($p < 0,001$). Відповідно, було більшим й відношення Ang-2/Ang-1 (у 1,4 рази; $p < 0,001$).

У залежності від компенсації ЦД2 за вмістом глікованого гемоглобіну також спостерігалася чітка тенденція до зростання вмісту обох ангіопетинів. Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у залежності від компенсації ЦД2 за вмістом у крові HbA1c (Me (Q_I-Q_{III})) наведено в **табл. 4**. Натомість для Ang-2 збільшення було більш вираженим, що проявлялося у відповідному збільшенні відношення Ang-2/Ang-1 при порівнянні пацієнтів з повною компенсацією з пацієнтами із задовільною компенсацією та декомпенсацією ($p < 0,001$).

Кореляційний аналіз, проведений шляхом розрахунку показника рангової кореляції Спірмена (r) за всіма дослідженими показниками та вмістом у СТ ангіопетинів наведено в **табл. 5**. Цей аналіз показав наявність достеменних прямих кореляційних зв'язків з віком, тривалістю ЦД2, кількістю балів за шкалою ETDRS, вмістом у крові HbA1c та їх зв'язок із максимально коригованою гостротою зору (МКГЗ) ($p < 0,01$). З рівнем глікемії та ЦТС зв'язку виявлено не було ($p > 0,05$).

Найменший за силою зв'язок вміст Ang-1 та Ang-2 мав з віком пацієнтів ($r = 0,390$ та $r = 0,298$, відповідно), при цьому, відношення Ang-2/Ang-1 загалом такого зв'язку не демонструвало ($p = 0,476$). Найміцніший зв'язок був встановлений з балом ETDRS ($r = 0,605$ та $r = 0,719$, відповідно).

Протягом трьох місяців після операції гомофтальм розвинувся у 33,1% пацієнтів, у тому числі у 1-й групі – у 28,6%, у 2-й – у 30,6% і у 3-й групі – у 39,0%, але ці відмінності не мали статистичної значущості ($p = 0,593$). Як і можна було очікувати, вміст ангіопетинів виявився більшим у пацієнтів, які мали післяопераційний гомофтальм. Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 за наявністю післяопераційного гомофтальму (Me (Q_I-Q_{III})) наведено в **табл. 6**.

При цьому була наявною раніше виявлена тенденція щодо збільшення вмісту у СТ ангіопетинів за групами, як у пацієнтів з післяопераційним гомофтальмом, так і без такого. Представляє інтерес порівняння вмісту ангіопетинів в залежності від наявності післяопераційного гомофтальму. Так, у пацієнтів з

Таблиця 2 – Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у пацієнтів з ДР та ЦД2 у залежності від статі; Me (Q_I-Q_{III})

Показник	Стать		p
	Жінки (n=66)	Чоловіки (n=52)	
Ang-1, пг/мл	688 (513-850)	656 (506-929)	0,884
Ang-2, пг/мл	2800 (1584-4002)	2399 (1599-4332)	0,645
Ang-2/Ang-1	4,29 (3,12-5,14)	3,63 (2,63-4,87)	0,264

Примітка: При проведенні порівняння використано критерій Манна-Уїтні.

Таблиця 3 – Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у залежності від тяжкості перебігу ЦД2; Me (Q_I-Q_{III})

Показник	2-й ступінь тяжкості ЦД2, n=73	3-й ступінь тяжкості ЦД2, n=45	p
	Ang-1, пг/мл	578,0 (417,5-693,8)	
Ang-2, пг/мл	1790,0 (1137,8-2697,3)	4403,0 (3519,0-4704,3)	<0,001
Ang-2/Ang-1	3,313 (2,335-4,675)	4,649 (4,006-5,341)	<0,001

Примітка: При проведенні порівняння використано критерій Манна-Уїтні.

гемофтальмом вміст Ang-1 був більшим тільки у 3-й групі (у 1,1 рази; $p = 0,044$), тоді як вміст Ang-2 перевищував такий у пацієнтів без гемофтальму у всіх трьох групах (у 1-й групі – у 1,2 рази, у 2-й – у 1,3 рази та у 3-й групі – у 1,1 рази; $p < 0,05$). Співвідношення Ang-2/Ang-1 за наявності гемофтальму статистично значущих різниць не мало.

Таким чином, наші дослідження вмісту у СТ ангіопетинів при ДР та ЦД2 показали багаторазове його збільшення у порівнянні з контролем, що залежало від тяжкості ДР і ЦД2, а також компенсації ЦД2 за рівнем у крові глікованого гемоглобіну. Ця тенденція більшою мірою стосувалася Ang-2.

Аналогічні результати були отримані при порівнянні двох груп пацієнтів, хворих на ЦД2 з ДР та без такої: визначено, що концентрація Ang-2 у сироватці крові була значно вищою за наявності ДР [16, 17]. За іншими даними, концентрація Ang-2 в два рази перевищувала концентрацію Ang-1 в СТ при НПДР та діабетичному макулярному набряку [18]. Переважання Ang-2 відмічено й у нашому дослідженні, що може сприяти підвищенню проникності судин та патологічному неоангіогенезу. Відомо, що при гіперглікемії

Таблиця 4 – Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 у залежності від компенсації ЦД2 за вмістом у крові HbA1c; Me (Q_I-Q_{III})

Показник	Повна компенсація (HbA1c < 7%), n=17	Задовільна компенсація (HbA1c 7-8%), n=30	Декомпенсація (HbA1c > 8%), n=71	p
Ang 1, пг/мл	458,0 ^{2,3} (281,5-581,0)	672,5 ^{1,3} (507,0-841,0)	756,0 ^{1,2} (623,5-953,0)	<0,001
Ang 2, пг/мл	1119 ^{2,3} (992,3-1206,8)	1882,5 ^{1,3} (1045,0-2880,0)	3210,0 ^{1,2} (2571,8-4507,5)	<0,001
Ang 2/Ang 1	2,46 ^{2,3} (1,89-3,57)	3,09 ¹ (2,141-4,65)	4,52 ¹ (3,70-5,40)	<0,001

Примітки: при проведенні порівняння використано критерій Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння проводилися за критерієм Данна: ¹ – відмінність від групи з повною компенсацією статистично значима ($p < 0,05$); ² – відмінність від групи з задовільною компенсацією статистично значима ($p < 0,05$); ³ – відмінність від групи з декомпенсацією статистично значима ($p < 0,05$).

Таблиця 5 – Результати кореляційного аналізу вмісту ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 з дослідженими показниками; r (p)

Показник	Ang-1, пг/мл	Ang-2, пг/мл	Ang-2/Ang-1
Вік, років	0,390 (<0,001)	0,298 (0,001)	0,066 (0,476)
Тривалість ЦД2, років	0,494 (<0,001)	0,507 (<0,001)	0,257 (0,005)
ETDRS, балів	0,605 (<0,001)	0,719 (<0,001)	0,458 (<0,001)
Глікемія, ммоль/л	0,01 (0,914)	0,168 (0,069)	0,173 (0,061)
МКГЗ	-0,381 (<0,001)	-0,458 (<0,001)	-0,239 (0,009)
ЦТС, мкм	0,103 (0,268)	0,187 (0,053)	0,136 (0,141)
HbA1C, %	0,33 (<0,001)	0,525 (<0,001)	0,407 (<0,001)

або гіпоксії підвищений рівень Ang-2 активує TIE2, що викликає відрив перичитів від базальної мембрани та їх міграцію [19].

Значне збільшення вмісту у СТ Ang-1 було визначено у пацієнтів з НПДР та клінічно значущим діабетичним макулярним набряком (2002 пг/мл; 289-5820 пг/мл) [20]. При цьому вміст Ang-2 був збільшеним у ще більший мірі (4000 пг/мл; 1341-14329 пг/мл), з чого автори роблять висновок про те, що переважання Ang-2 може сприяти індукованій VEGF судинній проникності сітківки у пацієнтів з макулярним набряком. При ПДР значного підвищення вмісту ангіопетинів авторами не встановлено, що могло бути пов'язано з невеликою кількістю спостережень у цьому дослідженні – 10 випадків [18].

Встановлено, що вміст Ang-2 в сироватці крові був значно підвищеним у пацієнтів з ЦД2 як з НПДР, так і з ПДР, у порівнянні з пацієнтами, які мали ЦД2 але не мали ДР [20]. Так само було встановлено суттєве збільшення вмісту і Ang-1, і Ang-2 у пацієнтів з ПДР [21].

Таблиця 6 – Вміст ангіопетинів та відношення Ang-2/Ang-1 за наявністю післяопераційного гемофтальму; Me (Q_I-Q_{III})

Показник	п/о Г	Група			p *
		1-а	2-а	3-я	
Ang-1, пг/мл	є	553,5 ³ (512,5-579,5)	662,0 ³ (621,0-755,0)	950,0 ^{1,2} (850,5-1121,5)	<0,001
	немає	454,5 ^{2,3} (286,5-588,5)	639,5 ^{1,3} (429,0-730,0)	856,0 ^{1,2} (753,3-12,3)	<0,001
	p **	0,252	0,152	0,044	
Ang-2, пг/мл	є	1241,5 ^{2,3} (1034,0-1470,0)	3021,0 ^{1,3} (2591,0-3438,0)	4562,5 ^{1,2} (4263,0-5489,5)	<0,001
	немає	1034,5 ^{2,3} (891,0-1136,5)	2279,0 ^{1,3} (1790,0-2773,0)	4265,0 ^{1,2} (3519,0-4624,5)	<0,001
	p **	0,027	<0,001	0,025	
Ang-2/Ang-1	є	2,094 ^{2,3} (1,898-2,583)	4,667 ¹ (3,735-5,066)	4,776 ¹ (4,359-5,469)	0,005
	немає	2,266 ^{2,3} (1,820-3,053)	3,736 ¹ (2,922-5,334)	4,649 ¹ (3,952-5,989)	<0,001
	p **	0,839	0,099	0,454	

Примітки: п/о Г – післяопераційний гемофтальм; * – при проведенні порівняння використано критерій Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння проводилися за критерієм Данна: ¹ – відмінність від 1-ї групи статистично значима (p<0,05); ² – відмінність від 2-ї групи статистично значима (p<0,05); ³ – відмінність від 3-ї групи статистично значима (p<0,05). ** – при проведенні порівняння використано критерій Манна-Уїтні.

Значне збільшення вмісту Ang-2 у СТ (1753±3213 пг/мл проти 112±113 пг/мл у контролі; p<0,0001) було відмічено у пацієнтів з ПДР, що корелювало із значним підвищенням у СТ вмісту VEGF (r=0,497; p=0,001) та цілком збіглося із нашими результатами [22].

Відомо, що одним із значущих пускових механізмів активації Ang-2 при ЦД2 виступає підвищений рівень глікованого гемоглобіну [23]. Була встановлена позитивна асоціація між вмістом глікованого гемоглобіну у крові та внутрішньоочним вмістом Ang-2 у пацієнтів з ДР та вітректомію [24]. Це положення повністю підтверджують наші дані про зв'язок вмісту Ang-2 із ступенем тяжкості та компенсації ЦД. Вміст у СТ ангіопетинів відповідає ступеню пошкодження при ДР та може визначати судинні ускладнення. У цьому плані результати, отримані у нашому дослідженні, доповнюють існуючі дані, а саме показаний позитивний зв'язок вмісту ангіопетинів із ступенем тяжкості та станом компенсації ЦД2, а також – з віком пацієнтів та тривалістю ЦД2, відмічена відсутність зв'язку вмісту ангіопетинів зі статтю.

Накопичення VEGF та Ang-2 у СТ при ПДР також було показано і у роботі А. Keles та співав. (2021), крім того, автори також показали і зв'язок високого рівня цього ангіопетину, як і фактору стромальних клітин-1α (SDF-1α) та VEGF з крововиливами у СТ, що більшою мірою було визначено для випадків з фіброваскулярною мембраною [25]. У наших дослідженнях був встановлений чіткий зв'язок післяопераційного гемофтальму з більш високим вмістом у СТ Ang-2.

Оцінюючи роль активації системи ангіопетинів при ДР та ЦД2, необхідно зазначити, що внаслідок хронічної гіперглікемії відбувається потовщення та розрихлення білків міжклітинного матриксу сполученої тканини та базальної мембрани капілярів з їх гіалінізацією [26]. Безпосередній наслідок цього процесу – гіпоксія, призводить до втрати перичитів, деструкції ендотеліальних клітин, атрофії капілярів. Натомість, активація рецептора TIE-2 через Ang-1 підтримує стабільність судин, обмежуючи ексудацію і неоваскуляризацію. Ang-2, який є конкурентним антагоністом Ang-1, порушує нормальні процеси осі Ang1/TIE-2, що негативно впливає на стан судин [27], та, на наш погляд, може збільшувати ризик гемофтальму після вітреоретинальних втручань у пацієнтів на ДР та ЦД2.

В експерименті, з індукованою стрептозотоцином ДР, збільшення рівнів Ang-2 призводило до втрати астроцитів і витоку судин, що блокувалося інтравітреального ін'єкцією Ang-2-нейтралізуючого антитіла [28]. Крім того, *in vitro* Ang-2 збільшував індукований високим вмістом глюкози апоптоз астроцитів, чому запобігала блокада інтегрину αvβ5. Отже, додатково до активації TIE-2, Ang-2 через шлях αvβ5-інтегрин/GSK-3β/β-катенин активує витік з судин через втрату астроцитів при ДР. Також у мишей з генетичним дефіцитом Ang-2 не спостерігали апоптозу і міграції перичитів сітківки при гіперглікемії, що вка-

зує на високий потенціал інгібування Ang-2 для терапевтичного втручання при ЦД2 [29, 30].

Однчасне інгібування моноклональними антитілами VEGF-A і Ang-2 знижувало кількість пошкоджень судин, їх проникність, набряк сітківки і втрачу нейронів більш ефективно, ніж будь-який агент окремо, в експериментальній моделі спонтанної хоріоїдальної неоваскуляризації [31]. Останні дані першого року клінічних випробувань фази III YOSEMITE, RHINE, TENAYA і LUCERNE підтвердили ефективність, безпеку, довготривалість і перевагу застосування фарицімаба (біспецифічного антитіла-блокатора і VEGF, і Ang2) у пацієнтів з діабетичним макулярним набряком та віковою макулярною дегенерацією [32].

Незалежним потужним рецептором Ang-2 є інтегрин $\beta 1$, активація якого дестабілізує ендотелій TIE2-незалежним чином [33]. Більш того, зв'язування і активація інтегрину $\beta 1$ було специфічним для Ang-2, але не для Ang-1, а експресія пов'язаного з мембраною TIE2, позбавленого кіназної активності, блокувала активацію інтегринів за допомогою Ang-2. Всі ці результати підтверджують, що Ang-2-опосередкована активація $\beta 1$ -інтегрину є промотором дестабілізації ендотелію, що може пояснювати протилежні судинні ефекти Ang-1 і Ang-2.

Таким чином, встановлений зв'язок системи ангіопетинів з ДР при ЦД2 та вплив Ang-2 на розвиток післяопераційного гемофтальму, вказує на перспективність використання блокади Ang-2 або його рецепторів для профілактики виникнення геморагічних ускладнень ДР і гемофтальму після вітреоретинальних втручань.

Висновки.

1. В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст у СТ ангіопетинів при ДР та ЦД2 був багаторазово збільшеним у порівнянні з контролем (у 5,7-10,2 рази; $p < 0,001$). За стадіями ДР спостерігалось збільшення їх вмісту від початкової НПДР до ПДР, що більшою мірою стосувалося Ang-2. За статтю вміст у СТ ангіопетинів суттєво не відрізнявся.

2. Визначено більший вміст ангіопетинів у пацієнтів з 3 ступенем тяжкості ЦД2 у порівнянні з пацієнтами з 2 ступенем. Рівень ангіопетинів зростає відповідно до стану компенсації ЦД2 за рівнем у крові глікованого гемоглобіну ($p < 0,001$), що більшою мірою стосувалося Ang-2.

3. Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність достеменних прямих кореляційних зв'язків вмісту у СТ ангіопетинів з віком, тривалістю ЦД2, кількістю балів за шкалою ETDRS, вмістом у крові HbA1c та їх зв'язком із МКГЗ ($p < 0,01$).

4. При післяопераційному гемофтальмі вміст Ang-1 був більшим тільки у пацієнтів з ПДР, тоді як вміст Ang-2 перевищував такий у всіх пацієнтів (в 1,1-1,3 рази; $p < 0,05$).

Перспективи подальших досліджень. Дослідження нових ланок патогенезу геморагічних ускладнень діабетичної ретинопатії, в тому числі нових факторів фібринолізу, у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу відкриє нові перспективи в прогнозуванні їх розвитку, а також профілактиці та застосуванні нових сучасних методів лікування.

Література

1. WHO. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2018. 84 p.
2. Tron'ko ND, Zak KPB. Sovremennye dostizheniya klinicheskoy patofiziologii v izuchenii patogeneza saharnogo diabeta 1-go i 2-go tipa u cheloveka. Mezhdunarodnyj Endokrinologicheskij Zhurnal. 2019;6:422-34. [in Russian].
3. LeRoith D, Biessels GJ, Braithwaite SS, Casanueva FF, Draznin B, Halter JB, et al. Treatment of diabetes in older adults: an endocrine society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(5):1520-1574.
4. Alifanov IS, Sakovich VN, Alifanova TA. Invalidnost' vsledstvie oftal'mologicheskikh oslozhnenij saharnogo diabeta v Ukraine. Oftal'mologichnij zhurnal. 2019;6:34-8. [in Russian].
5. Panchenko YUO, Mogilevs'kij SYU. Vpliv vitreoretinal'nih vtruchan' na klinichnij perebig diabetichnoї makulopatії u hvorih na cukrovij diabet 2 tipu. Arhiv oftal'mologii Ukraїni. 2019;7(1):78-83. [in Ukrainian].
6. Mogilevs'kij SYU, Panchenko YUO, Zyblicev SV. Novi chinniki riziku recidiviv diabetichnoї makulopatії pislja hirurgichnogo likuvannya u hvorih na cukrovij diabet 2 tipu. Oftal'mologichnij zhurnal. 2019;5:9-17. [in Ukrainian].
7. Hayashi SI, Rakugi H, Morishita R. Insight into the role of angiopoietins in ageing-associated diseases. Cells. 2020;9(12):2636. DOI: 10.3390/cells9122636.
8. Khan M, Aziz AA, Shafi NA, Abbas T, Khanani AM. Targeting angiopoietin in retinal vascular diseases: a literature review and summary of clinical trials involving faricimab. Cells. 2020;9(8):1869. DOI: 10.3390/cells9081869.
9. Souma T, Thomson BR, Heinen S, Carota IA, Yamaguchi S, Onay T, et al. VEPTP determines ANGPT2 activity on TIE2 receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018;115(6):1298-1303. DOI: 10.1073/pnas.1714446115.
10. Whitehead M, Osborne A, Widdowson PS, Yu-Wai-Man P, Martin KR. Angiopoietins in diabetic retinopathy: current understanding and therapeutic potential. [Internet]. Journal of Diabetes Research. 2019;2019:ID5140521. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/5140521>.
11. Cabral T, Mello LG, Lima LH, Polido J, Regatieri CV, Belfort RJr, et al. Retinal and choroidal angiogenesis: a review of new targets. Int J Retina Vitreous. 2017;3:31. DOI: 10.1186/s40942-017-0084-9.
12. Saharinen P, Eklund L, Alitalo K. Therapeutic targeting of the angiopoietin-TIE pathway. Nat Rev Drug Discov. 2017;16:635-661. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.278>.
13. Pankiv VI. Cukrovyy diabet: diagnostichny krytery, etiologia i patogenez. International Journal of Endocrinology. 2013;8(56):53-64. [in Ukrainian].
14. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs – An Extension of the Modified Airlie House Classification: ETDRS Report Number 10. Ophthalmology. 2020 Apr;127(4):99-119. DOI: 10.1016/j.ophtha.2020.01.030.
15. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 2013;48:452-458.
16. Skowerski T, Nabrđalik K, Kwiendacz H, Gumprecht J. Angiopoietin-2 and vascular complications of type 2 diabetes. Clinical diabetology. 2020;9(3):201-204. DOI: 10.5603/DK.2020.000.
17. Raj KK. Angiopoietin 2 in type 2 diabetes mellitus patients and those with complications: an observational comparative study. Int J Adv Med. 2020;7(5):733-736. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3933.ijam20201606>.
18. Patel JI, Hykin PG, Gregor ZJ, Boulton M, Cree IA. Angiopoietin concentrations in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 2005;89(4):480-483. DOI: 10.1136/bjo.2004.049940.
19. Geranmayeh MH, Rahbarghazi R, Farhoudi M. Targeting pericytes for neurovascular regeneration. Cell Commun Signal. 2019 Mar 20;17(1):26. DOI: 10.1186/s12964-019-0340-8.
20. Khalaf N, Helmy H, Labib H, Fahmy I, El Hamid MA, Moemen L. Role of Angiopoietins and Tie-2 in Diabetic Retinopathy. Electron Physician. 2017 Aug 25;9(8):5031-5035. DOI: 10.19082/5031.

21. Yu Y, Zhang J, Zhu R, Zhao R, Chen J, Jin J, et al. The Profile of Angiogenic Factors in Vitreous Humor of the Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy. *Curr Mol Med*. 2017 Dec 7;17(4):280-286. DOI: 10.2174/156652401766617110611440.
22. Watanabe D, Suzuma K, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Kurimoto M, et al. Vitreous levels of angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2005 Mar;139(3):476-481. DOI: 10.1016/j.ajo.2004.10.004.
23. Akwii RG, Sajib MS, Zahra FT, Mikelis CM. Role of angiopoietin-2 in vascular physiology and pathophysiology. *Cells*. 2019;8(5):471. DOI: 10.3390/cells8050471.
24. Tuuminen R, Haukka J, Loukovaara S. Poor glycemic control associates with high intravitreal angiopoietin-2 levels in patients with diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2015 Sep;93(6):e515-516. DOI: 10.1111/aos.12401.
25. Keles A, Sonmez K, Erol YO, Ayyıldız SN, Oğus E. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor, stromal cell-derived factor-1 α , and angiopoietin-like protein 2 in patients with active proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021 Jan;259(1):53-60. DOI: 10.1007/s00417-020-04889-0.
26. Gupta A, Bhatnagar S. Vasoregression: a shared vascular pathology underlying macrovascular and microvascular pathologies? *OMICS*. 2015;19(12):733-753. DOI: 10.1089/omi.2015.0128.
27. Gutbier B, Jiang X, Dieter K, Ehrler C, Lienau J, Van Slyke P, et al. Vasculotide reduces pulmonary hyperpermeability in experimental pneumococcal pneumonia. *Crit Care*. 2017;21(1):274. DOI: 10.1186/s13054-017-1851-6.
28. Yun JH, Park SW, Kim JH, Park YJ, Cho CH, Kim JH. Angiopoietin 2 induces astrocyte apoptosis via α v β 5-integrin signaling in diabetic retinopathy. *Cell Death Dis*. 2016 Feb 18;7(2):e2101. DOI: 10.1038/cddis.2015.347.
29. Cai J, Kehoe O, Smith GM, Hykin P, Boulton ME. The angiopoietin/Tie-2 system regulates pericyte survival and recruitment in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 May;49(5):2163-2171. DOI: 10.1167/iovs.07-1206.
30. Pfister F, Feng Y, vom Hagen F, Hoffmann S, Molema G, Hillebrands JL, et al. Pericyte migration: a novel mechanism of pericyte loss in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2008 Sep;57(9):2495-2502. DOI: 10.2337/db08-0325.
31. Regula JT, Lundh von Leithner P, Foxton R, Barathi VA, Cheung CM, Bo Tun SB, et al. Targeting key angiogenic pathways with a bispecific CrossMAb optimized for neovascular eye diseases. *EMBO Mol Med*. 2016 Nov 2;8(11):1265-1288. DOI: 10.15252/emmm.201505889.
32. Khanani AM, Russell MW, Aziz AA, Danzig CJ, Weng CY, Eichenbaum DA, et al. Angiopoietins as Potential Targets in Management of Retinal Disease. *Clin Ophthalmol*. 2021 Sep 4;15:3747-3755. DOI: 10.2147/OPTH.S231801.
33. Hakanpaal L, Sipilä T, Leppänen VM, Gautam P, Nurmi H, Jacquemet G, et al. Endothelial destabilization by angiopoietin-2 via integrin β 1 activation. *Nat Commun*. 2015 Jan 30;6:5962. DOI: 10.1038/ncomms6962.

РОЛЬ СИСТЕМИ АНГІОПОЕТИНІВ У ВИНИКНЕННІ ГЕМОФТАЛЬМУ ПІСЛЯ ВІТРЕОРЕТИНАЛЬНИХ ВТРУЧАНЬ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Риков С. О., Литвиненко С. С., Могілевський С. Ю.

Резюме. Діабетична ретинопатія (ДР) – неспецифічне судинне ускладнення ЦД як першого, так і другого типу, яке нерідко призводить до слабкості зору і сліпоті. При ДР та цукровому діабеті 2 типу (ЦД2) формується патологічне коло за участі ангіопоетинів (Ang-1 і Ang-2), що може мати значення для судинних порушень у сітківці та, зокрема, для формування гемофтальму після сучасних вітреоретинальних втручань.

Мета дослідження – визначити роль системи ангіопоетинів у виникненні гемофтальму після вітреоретинальних втручань при діабетичній ретинопатії та цукровому діабеті 2 типу.

Об'єкт і методи дослідження. У дослідженні взяли участь 118 пацієнтів (118 очей) з ЦД2 та ДР, які були розподілені на три групи: 1-а – з початковою непроліферативною ДР (НПДР; 28 очей), 2-а – з помірною або тяжкою НПДР (49 очей) та 3-я – з проліферативною ДР (ПДР; 41 око). Вік пацієнтів склав від 44 до 84 років, чоловіків було 52 (44,1%), жінок – 66 (55,9%). Всім пацієнтам була виконана закрита субтотальна вітректомія 25G з етапом панретинальної лазерної коагуляції (ПРЛК) та тампонадою газоповітряною сумішшю 18% СЗФ8 або залишали у вітреальної порожнині розчин BSS plus. У склоподібному тілі (СТ) імуноферментним методом визначали вміст Ang-1 і Ang-2.

Результати. Вміст у СТ ангіопоетинів при ДР та ЦД2 був багаторазово збільшеним у порівнянні з контролем (у 5,7-10,2 рази; $p < 0,001$). За стадіями ДР спостерігалось збільшення їх вмісту від НПДР до ПДР, що більшою мірою стосувалося Ang-2. За статтю вміст ангіопоетинів не відрізнявся. Визначено більший вміст ангіопоетинів у пацієнтів з 3-м ступенем тяжкості ЦД2 у порівнянні з 2-м ступенем. Рівень ангіопоетинів зростав відповідно до стану компенсації ЦД2 за рівнем у крові HbA1c ($p < 0,001$), що більшою мірою стосувалося Ang-2. Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність достеменних прямих кореляційних зв'язків вмісту у СТ ангіопоетинів з віком, тривалістю ЦД2, балів за шкалою ETDRS, вмістом у крові HbA1c та їх зв'язок із максимально коригованою гостротою зору ($p < 0,01$). За наявністю гемофтальму вміст Ang-1 був більшим тільки у пацієнтів з ПДР, тоді як вміст Ang-2 перевищував такий у всіх пацієнтів (в 1,1-1,3 рази; $p < 0,05$).

Висновки. Встановлений зв'язок системи ангіопоетинів з ДР при ЦД2 та вплив Ang-2 на розвиток післяопераційного гемофтальму, вказують на перспективність використання блокади Ang-2 або його рецепторів для профілактики виникнення гемофтальму після операції вітректомії.

Ключові слова: закрита субтотальна вітректомія, післяопераційний гемофтальм, ангіопоетини, діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2 типу.

THE ROLE OF ANGIOPOIETIN SYSTEM IN HEMOPHTHALMOS EMERGENCE AFTER VITREORETINAL SURGERY IN CASES OF DIABETIC RETINOPATHY AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Rykov S. O., Lytvynenko S. S., Mohilevskiy S. Yu.

Abstract. The diabetic retinopathy (DR) is a nonspecific vascular event for both type 1 and type 2 diabetes mellitus (DM), which often leads to shortsightedness and blindness. In cases of the DR and type 2 diabetes mellitus (DM2), a vicious circle is being formed with engagement of angiopoietins (Ang-1 and Ang-2); it may be significant for retinal vascular abnormalities and, in particular, for hemophthalmos development after advanced vitreoretinal surgery.

Purpose of the study. To analyze the role of angiopoietin system in hemophthalmos emergence after vitreoretinal surgery in cases of diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus.

Subjects and methods of the study. 118 patients (118 eyes) with DM2 and DR participated in the study. They were divided into 3 groups. I group: with mild non-proliferative DR (NPDR; 28 eyes); II group: with moderate or severe NPDR (49 eyes); III group: with proliferative DR (PDR; 41 eyes). The patients' age varied between 44 and 84 years with 52 men (44.1%) and 66 women (55.9%). All patients underwent 25G closed subtotal vitrectomy with panretinal photocoagulation (PRP) and either 18% gas-air tamponade (C3F8) or BSS plus solution in the vitreous cavity. Ang-1 and Ang-2 content had been identified in the vitreous body (VB) by means of immunoenzyme method.

Findings. In cases of the DR and DM2, angiopoietin content in the VB was multiples higher than a statistically average norm (in 5.7-10.2 times higher; $p < 0,001$). By DR stages, angiopoietin content increase (with higher relevance for the Ang-2) was observed from the NPDR to PDR cases. There was no difference in the angiopoietin content by sex. Patients with the DM2 3rd severity degree had higher angiopoietin content in comparison with the patients with the 2nd severity degree. The angiopoietin level decreased with improvement of the DM2 status as per HbA1c ($p < 0,001$) level with higher relevance for the Ang-2. Spearman rank correlation analysis showed presence of direct original correlation of angiopoietin content in CT with age, DM2 duration, ETDRS letter score, blood level of HbA1c and their linkage to the best corrected visual acuity ($p < 0,01$). Subject to hemophthalmos emergence, only the PDR patients had higher Ang-1 content, whereas all patients had excessive Ang-2 content (in 1.1-1.3 times higher; $p < 0,05$).

Conclusions. The traced connection between angiopoietin system and DR cases of DM2 patients, as well as the Ang-2 impact on post-operative hemophthalmos development, indicates good perspectives for usage of the Ang-2 or its receptors blockade to prevent hemophthalmos emergence after a vitrectomy.

Key words. Closed subtotal vitrectomy, post-operative hemophthalmos, angiopoietins, diabetic retinopathy, type 2 diabetes mellitus.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Rykov S. O.: 0000-0002-3495-7471^{AEF}
Lytvynenko S. S.: 0000-0003-1897-2476^{ABCD}
Mogilevskyy S. Yu.: 0000-0002-8744-3124^{AEF}

Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Литвиненко Сергій Сергійович

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика

Адреса: Україна, 03057, м. Київ, вул. Зоологічна, б. 3, корп. Г

Тел.: +38(050)196-42-56

E-mail: lytvinenko1995@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Безкоровайна І. М.

Стаття надійшла 11.05.2021 року

Стаття прийнята до друку 10.11.2021 року