

Вплив інтравітреального рівня ангіопоетину-2 при регматогенному відшаруванні сітківки на мікроциркуляторне русло ділянки макули

I. М. Безкорвайна, д-р мед. наук, професор; А. Іванченко, аспірант

Полтавський державний
медичний університет
Полтава (Україна)

Актуальність. Дослідження мікроциркуляторного русла хворих з регматогенним відшаруванням сітківки (РВС) за допомогою оптичної когерентної томографії ангіографії (ОКТ-А) у післяопераційному періоді виявило погіршення стану судинного русла сітківки, що зумовило дослідження рівня ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів з РВС як фактора дестабілізації судин.

Мета. Оцінка концентрації ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів із первинним РВС та виявлення його кореляції зі змінами мікросудинного русла макулярної ділянки, за даними ОКТ-А.

Матеріал та методи. У дослідженні взяли участь 87 пацієнтів із первинним РВС, які, залежно від стану макули, були розділені на 2 групи: без відшарування макулярної зони (macula-on) – I група, із відшаруванням макулярної зони (macula-off) – II група. Всім пацієнтам була проведена задня субтотальна вітректомія з взяттям зразків скловидного тіла. У зразках скловидного тіла визначили рівень ангіопоетину-2 за допомогою пристрою для зчитування мікропланишета ELISA (Human Angiopoietin-2 ELISA Kit, технології Thermo Fisher SCIENTIFIC). У пацієнтів оцінювали кореляцію між даними імуноферментного аналізу (ІФА) та параметрами ОКТ-А.

Результати. Кореляційний аналіз даних ОКТ-А при рівні ангіопоетину-2 $129,7 \pm 51,99$ пг/мл протягом всього терміну спостереження у I групі виявив прямий, тісний, статистично достовірний зв'язок між площею фовеальної аваскулярної зони (ФАЗ), фовеальною щільністю глибокого капілярного сплетіння (ФЦГКС), парафовеальною щільністю глибокого капілярного сплетіння (ПФЦГКС) та досліджуваним показником. Кореляційний аналіз даних ОКТ-А при рівні ангіопоетину $2693,8 \pm 634,7$ у II групі виявив прямий, тісний, статистично достовірний зв'язок між площею ФАЗ, ФЦГКС, ПФЦГКС та досліджуваним показником при обстеженні в перший та дванадцятий місяці; прямий, середній, статистично достовірний зв'язок – у третій та шостий місяці дослідження.

Висновки. Рівень ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів з РВС статистично нижчий у групі з macula-on ($129,7 \pm 51,99$ пг/мл) ніж з macula-off ($693,8 \pm 634,7$ пг/мл) ($p < 0,001$). Сильний прямий кореляційний зв'язок ($p < 0,05$) між рівнем ангіопоетину-2 та показниками мікроциркуляторного русла сітківки (площа ФАЗ, ПФЦГКС, ФЦГКС) в обох групах свідчить про вплив фактора дестабілізації судин на найкраще кориговану гостроту зору (НКТЗ).

Ключові слова:

ангіопоетин-2, регматогенне відшарування сітківки, ОКТ-ангіографія, макула

Вступ. Сучасним методом лікування регматогенного відшарування сітківки (РВС) є високоякісне малоінвазивне оперативне втручання, проте клінічні результати цих операцій залишаються незадовільними [1]. При дослідженні мікроциркуляторного русла хворих з РВС за допомогою оптичної когерентної томографії ангіографії (ОКТ-А) у післяопераційному періоді протягом 12 місяців, ми виявили погіршення стану судинного русла сітківки [2], що зумовило дослідження рівня ангіопоетину-2 (Ang2) у скловидному тілі пацієнтів з РВС як фактора дестабілізації судин та зв'язку цього показника з погіршенням показників ОКТ-А.

Ангіопоетини є кластером факторів росту, які контролюють сигнальні шляхи в ендотеліальних клітинах, проникність судинної стінки, а також реорганізацію та розвиток кровоносних судин. Ці процеси

мають пряму кореляцію з ростом нових кровоносних судин або ангіогенезом [3]. Білок ангіопоетин-1 служить природним стимулятором рецептора тирозинпиротейнінази-2, широко відомого як tyrosine kinase receptors (TIE-2) [4].

У той час як ангіопоетин-1 позитивно впливає на активність TIE-2, ангіопоетин-2 є контрпродуктивним модулятором активності TIE-2, викликаного гіпоксією та ішемією, що призводить до інактивації TIE-2 [5]. Пригнічення активності ангіопоетину-1 спричиняє дестабілізацію очної судинної мережі шляхом підвищення її сприйнятливості до vascular endothelial growth factor (VEGF) та інших запальних цитокінів, що зрештою призводить до підвищеної проникності

вітреоретинального бар'єра [6, 7]. Цю інформацію підтверджують й інші дослідники [8, 9].

Мета дослідження: оцінка концентрації ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів із первинним РВС та виявлення його кореляції зі змінами мікросудинного русла макулярної ділянки, за даними ОКТ-А.

Матеріал та методи

У дослідженні взяли участь 87 пацієнтів із первинним РВС, які, залежно від стану макули, були розділені на 2 групи: без відшарування макулярної зони (macula-on) – I група, із відшаруванням макулярної зони (macula-off) – II група. Всім пацієнтам було проведено хірургічне лікування – вітректомія з газовою ендотампонадою. Критеріями виключення були: наявність в анамнезі оперованого відшарування сітківки, травми або увеїти, діабетична ретинопатія, цукровий діабет, ниркова недостатність та вікова дегенерація макули.

Зразки нерозведеного скловидного тіла були набрані за допомогою вітреотома відразу після встановлення склеральних портів, були негайно заморожені в мікроцентрифужних пробірках (типу Еппендорф) та зберігалися при -80°C ; об'єм набраного матеріалу коливався від 0,5 до 0,7 мл.

Зразки скловидного тіла відправляли на дослідження рівня ангіопоетину-2 за допомогою пристрою для зчитування мікропланшета ELISA (Human Angiopoietin-2 ELISA Kit, технології Thermo Fisher SCIENTIFIC). Дослідження проводили відповідно до інструкції виробника. Концентрація ангіопоетину-2 представлена як середнє значення зі стандартним відхиленням ($M \pm SD$; пг/мл).

За допомогою ОКТ-А ми вивчали параметри судин сітківки: площу фовеальної аваскулярної зони (ФАЗ), фовеальну щільність глибокого капілярного сплетіння (ФЦГКС), парафовеальну щільність глибокого капілярного сплетіння (ПФЦГКС). Усім пацієнтам проводили повторні огляди у терміні 1, 3, 6 та 12 місяців після оперативного втручання.

ОКТ-А зображення мікроциркуляторного русла сітківки були отримані за допомогою системи AngioVue ОКТ-А (RTVue XR OCT Avanti, Optovue, Inc.), що використовує алгоритм ангіографії з розділенням спектра та декореляції амплітуди (split-spectrum-amplitude-decorrelation angiography (SSADA)). З метою підвищення роздільної здатності отриманого зображення та зменшення ймовірності виникнення артефактів руху та сегментації реєстрація ОКТ-А зображення проводилась з використанням режиму сканування Angio Retina 3×3 мм.

Дослідження проводилось із дотриманням усіх етичних норм та вимог Гельсінської декларації прав людини. Перед лікуванням всі пацієнти підписали інформовану згоду про проведення хірургічного втручання та включення їх до досліджуваної групи. Також було отримане позитивне рішення локального комітету з біоетики.

Статистичний аналіз проводився за допомогою програми GraphPad Prism (версія 8.0.1 (244) для Windows, GraphPad Prism, Сан-Дієго, Каліфорнія, США). Були використані наступні символи: * означає $p \leq 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ та **** – $p < 0,0001$ значущість, ns – відсутня достовірна різниця між показниками. Для порівняння середніх значень ангіопоетину-2 у групах використовували критерій Краскела-Уолліса (Kruskal-Wallis test). Протягом усього періоду спостереження в обох досліджуваних групах оцінювали вплив даних ОКТ – ангіографії на рівні ангіопоетину-2 за допомогою багатofакторного кореляційно-регресивного аналізу. Для цього використовували багатовимірну лінійну функцію типу $\hat{Y} = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_nX_n$. Фактори моделі: ФЦГКС (X_1), ФАЗ (X_2), ПФЦГКС (X_3). Показником Y_u функції є ангіопоетин-2. Кореляційний зв'язок трактували наступним чином: 0,30 – зв'язок слабкий, у межах 0,30 – 0,70 – середній, більше ніж 0,70 – тісний, а коли абсолютна величина дорівнює 1,00 – наявний практично-функціональний зв'язок, де значення $r = 1$ означає ідеальну позитивну кореляцію, а значення $r = -1$ означає ідеальну негативну кореляцію. Статистична значущість розглядалась як двостороння ймовірність, менша за 0,05.

Результати

Середня концентрація ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів I групи була $129,7 \pm 51,99$ пг/мл (у межах від 84,50 до 268,3 пг/мл) та II групи – $693,8 \pm 634,7$ пг/мл (у межах від 103,7 до 2065 пг/мл). Рівень ангіопоетину-2 був значно нижчим в очах з macula-on порівняно з очима з macula-off ($p < 0,001$).

В обох обстежуваних групах не було виявлено залежності рівня ангіопоетину-2 від статі та віку пацієнтів ($p > 0,05$).

У таблицях 1 та 2 наведені фактичні та статистично достовірні прогностичні значення рівнів ангіопоетину-2 в обох групах.

Результати моделі множинної регресії (табл. 1) показали, що у I групі рівень ангіопоетину-2 прогностично зріс у 2 рази порівняно з дійсним значенням через 1 місяць після оперативного лікування. У періоди через 3, 6 та 12 місяців рівень досліджуваного фактора залишався незмінним.

Результати моделі множинної регресії (табл. 2) показали, що рівень ангіопоетину-2 через 1 місяць статистично вірогідно прогностично зріс в 1,1 рази. Протягом 3, 6 і 12 місяців рівень досліджуваного фактора поступово зменшився.

При проведенні кореляційного аналізу даних ОКТ-А при рівні ангіопоетину-2 $129,7 \pm 51,99$ пг/мл в I групі був виявлений сильний зв'язок між площею ФАЗ, ФЦГКС, ПФЦГКС та ангіопоетином-2 (Ang_2) у передопераційному періоді та через 1, 3, 6 та 12 місяців спостереження (табл. 3).

Результати, що відображені у таблиці 3, свідчать про прямий вплив ангіопоетину-2 на мікроциркуля-

Таблиця 1. Дійсне та статистично достовірне прогностичне середнє значення ангіопетину-2, розраховане багатфакторною виробничою функцією у I досліджуваній групі.

Дійсне значення ангіопетину-2		129,73 пг/мл
Статистично достовірне прогностичне значення ангіопетину-2	через 1 місяць після оперативного втручання	282,53 пг/мл
	через 3 місяці після оперативного втручання	280,01 пг/мл
	через 6 місяців після оперативного втручання	284,46 пг/мл
	через 12 місяців після оперативного втручання	260,50 пг/мл

Таблиця 2. Дійсне та статистично достовірне прогностичне середнє значення ангіопетину-2, розраховане багатфакторною виробничою функцією у II досліджуваній групі.

Дійсне значення ангіопетину-2		693,77 пг/мл
Статистично достовірне прогностичне значення ангіопетину-2	через 1 місяць після оперативного втручання	782,32 пг/мл
	через 3 місяці після оперативного втручання	739,78 пг/мл
	через 6 місяців після оперативного втручання	714,32 пг/мл
	через 12 місяців після оперативного втручання	507,58 пг/мл

Таблиця 3. Результати аналізу кореляційного зв'язку морфометричних даних ОКТ-А з рівнем ангіопетину-2 у I досліджуваній групі

Термін дослідження	Коефіцієнт кореляції (r)				
	До операції	1 місяць	3 місяці	6 місяців	12 місяців
ФЩГКС	0,84	0,98	0,87	0,81	0,86
Площа ФАЗ	0,79	0,82	0,94	0,88	0,74
ПФЩГКС	0,99	0,83	0,88	0,94	0,93

Примітка: p – рівень значущості різниці < 0,05, ФЩГКС – фовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння, ФАЗ – фовеальна аваскулярна зона, ПФЩГКС – парафовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння

торне русло у всі терміни обстеження. Розширення ФАЗ та зменшення щільності глибокого капілярного сплетіння (ГКС) під дією фактора дестабілізації судин було підтвержене сильним кореляційним зв'язком. Це призводить до погіршення кровопостачання ділянки макули та впливає на найкращу кореговану гостроту зору (НКГЗ). НКГЗ до лікування у I групі склала $1,2 \pm 0,51 \log\text{MAR}$; у терміні спостереження 12 місяців гострота зору становила $0,08 \pm 0,07 \log\text{MAR}$.

У I групі виявлено 11 (24%) пацієнтів із гостротою зору $0,1 \pm 0,0 \log\text{MAR}$, яка була нижчою від парних очей. При їх детальному обстеженні виявлено нижчий

показник щільності судин ГКС у фовеальній та парафовеальній ділянках ($33,09 \pm 6,23\%$ та $48,27 \pm 4,23\%$ відповідно); відповідно, через 1 рік, розширення площі ФАЗ ($0,275 \pm 0,06 \text{ мм}^2$) було меншим ніж у загальній популяції цієї групи пацієнтів, а рівень ангіопетину-2 становив, у середньому, $206,7 \pm 31,12 \text{ пг/мл}$.

При проведенні кореляційного аналізу даних ОКТ-А при рівні ангіопетину-2 $693,8 \pm 634,7 \text{ пг/мл}$ у II групі був виявлений сильний зв'язок між площею ФАЗ, ФЩГКС, ПФЩГКС та ангіопетином-2 (Ang2) у терміні обстеження 1 та 12 місяців; прямиий, середній, статистично вірогідний зв'язок – 3 та 6 місяців (табл. 4).

Таблиця 4. Результати аналізу кореляційного зв'язку морфометричних даних ОКТ-А з рівнем ангіопетину-2 у II досліджуваній групі

Термін дослідження	Коефіцієнт кореляції (r)			
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	12 місяців
ФЩГКС	0,94	0,99	0,80	0,89
Площа ФАЗ	0,98	0,89	0,85	0,84
ПФЩГКС	0,83	0,54	0,69	0,71

Примітка: p – рівень значущості різниці < 0,05, ФАЗ – фовеальна аваскулярна зона, ФЩГКС – фовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння, ПФЩГКС – парафовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння.

Таблиця 5. Результати багатфакторної лінійної регресії впливу рівня ангіопоетину-2 на площу ФАЗ, ФЦГКС та ПФЦГКС.

Статистичні показники	Термін дослідження									
	До операції		1 місяць		3 місяці		6 місяців		12 місяців	
	Групи досліджуваних									
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
R ²	0,92	н/в	0,94	0,83	0,90	0,87	0,95	0,88	0,98	0,92
F розрахункове	3,15 *	н/в	3,09 *	2,60	3,39 *	3,38 *	3,96 *	3,49 *	3,97 *	3,59 *
F табличне	2,53	н/в	2,53	2,55	2,53	2,55	2,53	2,55	2,53	2,55

Примітка: R² – коефіцієнт детермінації; F – критерій Фішера; * – рівень значущості різниці – $p < 0,05$; н/в – не визначено; ФАЗ – фовеальна аваскулярна зона; ФЦГКС – фовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння; ПФЦГКС – парафовеальна щільність глибокого капілярного сплетіння.

Результати аналізу кореляційного зв'язку в II групі вказують на сильний вплив ангіопоетину-2 на показники ОКТ-А, які відповідають за мікроциркуляцію. Щільність судин зовнішніх шарів сітківки та розміри площі ФАЗ залежали від досліджуваного фактора дестабілізації судин, котрий опосередковано погіршував відновлення кровопостачання макули. НКГЗ до лікування у II групі становила $2,61 \pm 0,95$ logMAR, а через 12 місяців показник покращився до $0,21 \pm 0,19$ logMAR.

У II групі було виявлено 10 (24%) пацієнтів із гострою зору $0,24 \pm 0,13$ logMAR, яка була нижчою ніж на парних очах. При їх детальному обстеженні виявлено нижчий показник щільності судин ГКС у фовеальній та парафовеальній областях ($31,23 \pm 5,37\%$ та $46,58 \pm 4,32\%$ відповідно), розширення площі ФАЗ ($0,348 \pm 0,062$ мм²) було меншим ніж у загальній популяції цієї групи пацієнтів, а рівень ангіопоетину-2 становив, у середньому, $1655,0 \pm 295,45$ пг/мл.

В обох досліджуваних групах значення коефіцієнта детермінації – R² (табл. 5) за весь період дослідження наближалось до 1, що свідчить про достовірний вплив рівня ангіопоетину-2 на площу ФАЗ, ФЦГКС та ПФЦГКС. Статистична значущість досліджуваних багатовимірних лінійних моделей була продемонстрована F-критерієм Фішера у передопераційному періоді та через 1, 3, 6 й 12 місяців спостереження. При цьому розрахункові значення перевищували табличні, окрім результатів спостереження у II групі у терміні 1 місяць.

Обговорення

Отже, згідно з результатами статистичного аналізу даних рівня ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів з РВС macula-on та macula-off виявлено, що рівень досліджуваного інтравітреального фактора був статистично вищим в II групі ($p < 0,001$), порівняно з I групою.

Виявлена кореляція ($p < 0,05$) між мікроциркуляторними змінами ділянки макули у післяопераційному періоді (даними ОКТ-А: площа ФАЗ, ФЦГКС, ПФЦГКС) та рівнем ангіопоетину-2 свідчить про

прямий вплив досліджуваного фактора дестабілізації судин на зменшення щільності судин у ГКС, що, своєю чергою, призводить до погіршення кровопостачання зовнішніх шарів сітківки та тривалішого відновлення площі ФАЗ.

Також, беручи до уваги, що кореляційний сильний прямий взаємозв'язок був виявлений в обох групах, можемо припустити, що стан ділянки макули відіграє другорядну роль у післяопераційних функціональних результатах, адже рівень ангіопоетину-2 при РВС у будь-якому випадку впливає на мікроциркуляторне русло сітківки. Тому ми можемо висунути гіпотезу, що зниження рівня ангіопоетину-2 у скловидному тілі може призвести до швидшої регенерації кровопостачання макули, що ототожнюється з результатами, отриманими Jaegyuung K. [5], та впливатиме на функціональні результати.

Отримані результати багатфакторних моделей регресії свідчать про можливе збереження високого рівня ангіопоетину-2 у вітреальній порожнині після операції та його вплив на швидкість відновлення мікроциркуляторного русла сітківки у післяопераційному періоді, що більш виражено при відшаруванні сітківки у ділянці макули.

У літературних джерелах наявні дані, що ангіопоетин-2 активується при ішемії тканин, дезактивуючи TIE-2, що призводить до просочування стінок судин, втрати перичитів та збільшення запалення [10, 11]. Дослідження показують, що ангіопоетиноподібні білки можуть відігравати важливу роль у клітинному метаболізмі. У деяких роботах повідомляється, що експресія ангіопоетину-2 призводить до прискорення неоваскуляризації та ішемії сітківки у мишей при експериментальному цукровому діабеті. Ці публікації підтверджують отримані судинні ефекти ангіопоетину-1 та ангіопоетину-2 [12].

Таким чином, встановлений зв'язок ангіопоетину-2 з порушенням мікроциркуляторного русла макули при РВС та вплив ангіопоетину-2 на швидкість відновлення судин сітківки вказує на перспективність використання блокади ангіопоетину-2 або його рецепторів

для прискорення регенерації кровопостачання макули у післяопераційному періоді, що, своєю чергою, опосередковано впливає на покращення гостроти зору пацієнтів.

Порівнюючи результати ОКТ-А та рівні ангіопоетину-2 у двох групах, можна спостерігати тенденцію до сильнішого пошкодження мікроциркуляторного русла сітківки у пацієнтів з РВС та високим рівнем ангіопоетину-2.

Заключення. Рівень ангіопоетину-2 у скловидному тілі пацієнтів з РВС нижчий у групі з macula-on – $129,7 \pm 51,99$ пг/мл, порівняно з macula-off – $693,8 \pm 634,7$ пг/мл ($p < 0,001$).

Сильний прямий кореляційний зв'язок ($p < 0,05$) між рівнем ангіопоетину-2 та показниками мікроциркуляторного русла сітківки (площа ФАЗ, ПФЦГКС, ФЦГКС) в обох групах, опосередковано свідчить про вплив фактора дестабілізації судин на функціональні післяопераційні результати (найкраща коригована гострота зору).

Встановлено, що високий рівень ангіопоетину-2 у вітреальній порожнині може залишатись до 12 місяців після операції та негативно впливати на відновлення мікроциркуляторного русла сітківки.

Література

1. **Kuhn F, Aylward B.** Rhegmatogenous retinal detachment: a reappraisal of its pathophysiology and treatment. *Ophthalmic Res.* 2014; 51(1):15-31.
2. **Bezkorovaina I, Ivanchenko A,** Correlation between optical coherence tomography angiography-based data and postoperative visual acuity in patients that underwent surgery for macula-on RRD and macula-off RRD. *Journal of Ophthalmology.* 2023; 3 (512): 42-48.
3. **Teresa T, Sandra K.** Anti-inflammatory cytokine and angiogenic factors levels in vitreous samples of diabetic retinopathy patients. *PLoSOne.* 2018; 13(3):36-49
4. **Antonia M, Federico R.** Angiopoietin/Tie2 signaling and its role in retinal and choroidal vascular diseases: a review of preclinical data. *Eye (Lond).* 2021; 35(5): 1305-1316.
5. **Jaeryung K, Jang R.** Tie2 activation promotes choriocapillary regeneration for alleviating neovascular age-related macular degeneration. *Science Advance.* 2019; 5(2):23-39
6. **Bezkorovayna IM., Steblovska IS., Ryadnova VV., Pervasilchenko AV., Voskresenska LK., Bezega NM.** Prediction of the development of retinal morphological changes after phacoemulsification based on the state of the cytokine profile of intraocular fluid. *Wiadomości Lekarskie.* 2020; LXXIII (4):792-795
7. **Borrelli E, Sarraf D.** OCT angiography and evaluation of the choroid and choroidal vascular disorders. *ProgRetin Eye Res.* 2018;67:30-55.
8. **Savchenko LG, Digtar NI, Selikhova LG, Vesnina LE., Kaidashev IP.** Liraglutide exerts an anti-inflammatory action in obese patients with type 2 diabetes. *Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne.* 2019;57(3):233-240.
9. **Chekalina NI, Shut SV, Trybrat TA, Manusha YI, Kazakov YM.** Effect of quercetin on parameters of central hemodynamics and myocardial ischemia in patients with stable coronary heart disease. *Wiadomosci lekarskie.* 2017;70(4):707-711.
10. **Thiago C, Luiz G.** Retinal and choroidal angiogenesis: a review of new targets. *Cabral et al. Int J RetinVitr.* 2017; 3(31): 51-64
11. **Chen S, Zhou Y.** Anti-neovascularization effects of DMBT in age-related macular degeneration by inhibition of VEGF secretion through ROS-dependent signaling pathway. *Mol Cell Biochem.* 2018; 448:225–235.
12. **Majid K, Aamir A.** Targeting Angiopoietin in Retinal Vascular Diseases: A Literature Review and Summary of Clinical Trials Involving Faricimab Cells. 2020; 9(8):174-186

Відомості про авторів та розкриття інформації

Відмови від відповідальності: висловлені у поданій статті думки є власними думками авторів, а не офіційними позиціями установи.

Джерела підтримки: відсутні.

Конфлікт інтересів: Автори засвідчують про відсутність конфліктів інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Надійшла 23.09.2023