



## Општи подаци и протокол истраживања

### Назив Пројекта :

ИМУНСКА ОСНОВА ПСЕУДОЕКСФОЛИЈАТИВНОГ СИНДРОМА/ГЛАУКОМА

### Кључне речи :

псеудоексфолијативни синдром, псеудоексфолијативни глауком, цитокини.

## Предмет, садржај и циљ истраживања

### Сажетак

Значај нашег испитивања је да се укаже на могућу имунопатологију псеудоексфолијативног синдрома/глаукома. Псеудоексфолијације (ПЕХ) су најчешћи узрок глаукома отвореног и затвореног угла. Њихово таложење на дужици, у зид окуларних крвних судова доводи до хипоксичног стања у оку услед поремећаја окуларних крвних баријера и поремећаја протока крви кроз крвне судове мрежњаче. ПЕХ се одликује таложењем фибриларног материјала у свим видљивим деловима предњег сегмента ока. У екстраокуларним ткивима оне се најчешће налазе у кожи и везивним ткивима на улазним местима висцералних органа. ПЕХ настаје услед стресом изазване еластозе, која је повезана са повећаним стварањем микрофибрила и њиховим везивањем у конгломерате. Уочен је повишен ниво појединих цитокина у очној водици и серуму особа са ПЕХ-ом, повишен ниво хомоцистеина у очној водици и серуму оболелих, као и поремећај односа оксиданс- антиоксиданс у очној водици оболелих. Резултати указују на могућу инфламаторну природу настанка ПЕХ-а. Фактори хипоксије у оку и организму делују стимулаторно на различите субпопулације помагачких Т лимфоцита (Th од енгл. T helper lymphocytes) да стварају проинфламаторне цитокине који узрокују повећано стварање ПЕХ материјала у оку и читавом организму. У истраживању ћемо анализирати цитокински профил у очној водици и серуму оболелих, који ће бити хоспитализовани на Клиници за офталмологију због планиране операције старачке скраме. Пацијенти ће бити подељени у три групе: пацијенти са ПЕХ синдромом и скрамом, пацијенти са ПЕХ глаукомом и скрамом и контролна група би били пацијенти са скрамом.

### Циљ истраживања

Показано је да цитокини IL-6, IL-8 и TGF- $\beta$  учествују у настанку ПЕХ синдрома. Зато је циљ нашег истраживања да одредимо нивое појединих цитокина у очној водици и серуму особа са ПЕХ синдромом/глауком. Испитивани цитокини би могли да имају важну улогу у инфламаторном процесу што би указало на могућу имунопатологију ПЕХ синдрома/глаукома.

1. Утврђивање демографских карактеристика испитаника.
2. Одређивање нивоа цитокина, које синтетишу различите субпопулације Тh лимфоцита и друге ћелије, у очној водици и серуму испитаника (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL 9, IL-10, IL-17, IL-23, PDGF, IGF-1, EGF, ITAC).



3. Одређивање концентрације азотмооксида (NO) и витамина Ц у очној водици испитаника.
4. Утврђивање присуства пратећих кардиоваскуларних и цереброваскуларних поремећаја код испитаника.

### Актуелност истраживања

Псеудоексфолијативни синдром је честа окуларна манифестација системског обољења и један од најчешћих узрока глаукома у свету (нађен је код 25% оболелих од глаукома<sup>1</sup>). ПЕХ синдром је непосредно повезан са старењем и одликује га повећано стварање и акумулација фибриларног материјала у свим видљивим деловима ока. ПЕХ може да се нађе у зиду крвних судова, у многобројним екстраокуларним органима и ткивима. Прелазак из ПЕХ синдрома у ПЕХ глауком је моменат када прокрвљеност крвних судова мрежњаче није довољна да обезбеди исхрану нервних влакана мрежњаче, а очни притисак се повећава изслед присуства ПЕХ у свим деловима ока и настају промене на очном живцу услед изумирања нервних влакана. Постоји повезаност између постојања ПЕХ-а и кардиоваскуларних и цереброваскуларних обољења (Алзхеимерова болест<sup>2</sup>, анеуризме аорте<sup>3</sup>, сензонеурални губитак слуха<sup>3</sup>, церебро- васкуларни инсулти<sup>2</sup>, болести срца<sup>2</sup>...).

ПЕХ синдром је чешћи код припадника женског пола (чак и до три пута чешћи код жена него код мушкараца<sup>5</sup>), док је ПЕХ глауком два пута чешћи код припадника мушког пола<sup>5</sup>. ПЕХ је чешћи код особа које су старије од 50 година (највећи број особа са ПЕХ је у старосној групи од 69-75 година)<sup>5</sup>. Најчешће се манифестује као билатерално очно обољење, иако почиње унилатерално. Постоје подаци о генетској основи обољења који указују на преношење преко X хромозома аутозомалним наслеђивањем<sup>6</sup>. Уочена је и повезаност повећане инциденце обољења у неким географским срединама (нордијске земље- Шведска, Финска<sup>7</sup>). Такође, показана је повећана инциденца ПЕХ-а код особа које су дуже време изложене већем степену UV зрачења<sup>8</sup>. Услед повећања фактора оксидативног стреса у очима, али и организму предиспонираних особа настаје повећана експресија LOXL-1 (од енгл. Lysil oxidase like 1) гена, што за последицу има повећано стварање ПЕХ-а<sup>6</sup>. Фактори хипоксије у оку и организму уз значајно смањене цитопротективне механизме (антиоксидативна одбрана, функција протеазома, стресом изазвана активност ендоплазматског ретикулума) су фактори који индукују процес стварања микрофибрила<sup>9</sup>.

Уочен је повишен ниво појединих цитокина у очној водици и серуму особа са ПЕХ-ом, повишен ниво хомоцистеина у очној водици и серуму оболелих, као и поремећај односа оксиданс- антиоксиданс у очној водици оболелих<sup>10,11</sup>. У раном стадијуму ПЕХ синдрома нађене су повећање концентрације IL-6 и IL-8 у очној водици и серуму оболелих, док се у каснијем стадијуму та разлика постоји само за IL-6, у односу на особе које имају обичан глауком отвореног угла. IL-6 и IL-8 се синтетишу у епителним ћелијама цилијарног тела, рожњачи, трабекулуму, дужици, сочиву, цилијарним наставцима, судовњачи и мрежњачи, као одговор на хипоксију или оксидативни стрес<sup>12</sup>. IL-6, за разлику од IL-8, повећава секрецију TGF- $\beta$  и стварање протеина еластичних влакана<sup>12</sup>. Трансформишући фактор раста бета - TGF- $\beta$ , као и повећање ћелијског оксидативног стреса учествују у настанку ПЕХ синдрома/глаукома<sup>13</sup>. TGF- $\beta$  стимулише велики број ћелија ока (епител цилијарног тела, пигментни епител дужице,



епителне ћелије екватора сочива, ендотел крвних судова...) да стварају веће количине фибриларног материјала. Додатно, TGF- $\beta$  стимулише стварање ендотелина-1 (вазоконстриктор) који повећава стварање слободних радикала<sup>14</sup>. На овај начин настаје зачарани круг који за последицу има све веће стварање и нагомилавање ПЕХ-а у оку чиме се стварају повољни услови за развој ПЕХ глаукома. Нагомилавање ПЕХ материјала у предео трабекулама коморног угла ока, смањен проток крви у крвним судовима ока и повишен ниво хомоцистеина представљају главне узроке за развој глаукома<sup>10</sup>. Додатно, ниво проинфламаторног цитокина TNF- $\alpha$  који доприноси запаљенском процесу је знатно већи код особа које имају глауком, у односу на особе које имају само катаракту<sup>15</sup>.

Са обзиром на постојеће резултате у доступној литератури одређивање: концентрације азотмооксида (NO) и витамина Ц, као параметри за степен оксидативног стреса, и концентрације цитокина - TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL 9, IL-17, IL-23, PDGF, IGF-1, EGF, ITAC као факторе имунопатолошког процеса у оку, били би значајни за испитивање патофизиолошких процеса у ПЕХ-у.

**Предмет и опис истраживања:  
задачи, методологија, очекивани резултати**

Задатак нашег истраживања је да се укаже на могућу имунопатологију псеудоексфолијативног синдрома/ глаукома.

Анализираћемо цитокински профил у очној водици и серуму болесника, који би били примљени на Клинику за офталмологију, КЦ Крагујевац, због извођења планиране операције старачке скраме. Све болеснике би поделили у три групе:

1. Болесници са ПЕХ синдромом и старачком скрамом
2. Болесници са ПЕХ глаукомом и старачком скрамом
3. Болесници са старачком скрамом- контролна група

Приликом пријема болесника на Клинику за офталмологију КЦ Крагујевац узимаћемо крв (5 ml) за одређивање серумског нивоа одабраних цитокина. Током извођења операције старачке скраме, методом парацентезе (уводни, обавезни корак у операцији старачке скраме) иглом и бризгалицом узимаћемо 0.2 ml очне воде из предње очне коморе у којој ће се мерити нивои одабраних цитокина. Узорци серума и очне воде ћемо чувати до анализе на температури од -20°C. Анализе ће се вршити на Институт за Имунологију, Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу. За анализу ћемо користити ензимоимунотест китове (ELISA од енг. – Enzyme - linked immunosorbent assay). Анализом ће бити обухваћени сви испитаници који би били примљени на Клинику за офталмологију, КЦ Крагујевац, у периоду од две године, због планиране операције старачке скраме.

Очекујемо да анализа покаже повећање концентрације проинфламаторних цитокина, које продукују Th1 и Th17 лимфоцита, у очној водици и серуму особа са ПЕХ-ом, у односу на контролну групу.

**Значај истраживања**

Значај нашег испитивања је у доказивању могуће имунопатолошке основе ПЕХ синдрома/ глаукома. Са обзиром на велики број особа са ПЕХ-ом, као и на то да је водећи узрок глаукома у свету, било би од великог значаја у офталмологији да се расветли механизам његовог



настанка. Додатно, повезаност ПЕХ-а са великим бројем системских обољења истраживање би могло да буде од значаја за истраживања утицаја наведених цитокина у патогенези цереброваскуларних и кадиоваскуларних болести.

### Временски оквир

Студија ће се спровести у периоду од 2 године и то од 01.03.2011. до 01.03.2013. год и обухватиће по 20 пацијената за сваку групу испитаника са постављеном дијагнозом сенилне скраме, који би били примљени на Клинику за офталмологију, КЦ Крагујевац, ради планиране хируршке интервенције.

### Литература

1. Ritch R. 1994, Exfoliation Syndrome: the most common identifiable cause of open angle glaucoma, *J. Glaucoma*. 1994; 3: 176-8.
2. Linner E, Popovic V, Gottfries CG. The exfoliation syndrome in cognitive impairment of cerebrovascular or Alzheimer's type. *Acta Ophthalmologica*. 2001; 79: 283-5.
3. Schumacher S, Schlotzer-Schrehardt U, Martus P, Lang W, Nauman GOH. Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of abdominal aorta. *Lancet*. 2001; 357: 359- 60.
4. Cahill M, Early A, Stack S, Blayney AW, Eustace P. Pseudoexfoliation and sensorineural hearing loss. *Eye*. 2002; 16: 261-6.
5. Kozart DM, Yanoff M. Intraocular pressure status in 100 consecutive patients with exfoliation syndrome. *Ophthalmology*. 1982; 89(3): 214-8.
6. Schlotzer- Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndroma/ glaucoma- New insights from LOXL 1 gene associations. *Experimental eye research*. 2009; 88(4): 776- 85.
7. Ringvold A. Epidemiology of glaucoma in Northern Europe. *Eur J ophthalmol*. 1996; 6: 26-9.
8. Wang H, Kochevar IE. Involvement of UVB- induced reactive oxygen species in TGF- beta biosynthesis and activation in keratinocytes. *Free Radic Biol Med*. 2005; 38: 890-7.
9. Zenkel M, Kruse FE, Naumann GO, Schlotzer- Schrehardt U. Impaired Cellular stress response in eyes with pseudoexfoliation syndrome/ glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007; 48: 5558- 66.
10. Puustjarvi T, Biomster H, Kontkanen M, Punnonen K, Terasvirta M, Plasma and aqueous humor levels of homocystein in exfoliation syndrome, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004; 242: 749- 54.
11. Eires M, Collins T, Khachigen LM, Modulation of growth factor gene expression in vascular cells by oxidative stress. *Endothelium*. 2004; 11: 133-9
12. Zenkel M, Lewczuk P, Junemann A, Kruse FE, Naumann GO, Schlotzer- Schrehardt U. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/ glaucoma. *Am J Ophthalmology*. 2010; 176: 2868- 79.
13. Yoneda K, Nakano M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Disease related quantitation of TGF-beta in human aqueous humor. *Growth factors*. 2007; 25 (3):160-7.
14. Koliakos GG, Konstas AG, Schlotzer- Schrehardt U, Holl G, Mitova D, Kovatchev D, Maloutas D, Georgiadis N. Endothelin-1 concentration is increased in the aqueous humor of patients with exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88: 523- 7.



15. Sawada H, Fukuchi T, Tanaka T, Abe H. Tumor necrosis factor- alpha concentration in the aqueous humor of patients with glaucoma. Invest Ophthalmol. 2010; 51 (2): 903-6.