

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL PRECLINIC



# TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:**

PROF. UNIV. DR. ATANASIU VALERIU

**Student-doctorand:**

CIOTU IULIA MARIA

ANUL 2017

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL PRECLINIC



**MODIFICĂRI BIOCHIMICE ÎN  
GLAUCOM  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

PROF. UNIV. DR. ATANASIU VALERIU

**Student-doctorand:**

CIOTU IULIA MARIA

ANUL 2017

## Cuprins

Partea generală.....	1
Introducere.....	1
Fiziopatologia și modificările biochimice produse în glaucoma.....	2
Contribuții personale .....	5
Studiu privind evaluarea MMP-urilor în umoarea apoasă și plasma pacienților cu glaucom5	
Scopul .....	5
Material și metodă.....	5
Rezultate .....	6
Concluzii.....	15
Studiu retrospectiv privind modificările apărute la nivelul profilului lipidic plasmatic și determinarea frecvenței hipertensiunii arteriale în cazul pacienților cu glaucom tratați prin medicație topică sau chirurgical .....	16
Ipoteza de lucru și obiective specifice .....	16
Material și metodă.....	16
Rezultate .....	17
Concluzii.....	19
Bibliografie selectivă.....	20

## Partea generală

### Introducere

Glaucomul este o afecțiune silențioasă, dar invalidantă, iar lipsa unui tratament adecvat și a unei supravegheri atente poate duce la orbire. Numărul foarte mare de persoane afectate de glaucom, dar mai ales numărul crescut de persoane nevăzătoare a reprezentat principala motivație în alegerea acestui subiect de cercetare

Glaucomul este considerat a doua cauză de orbire din lume și principala cauză de orbire ireversibilă conform World Health Organization (WHO)(1). Abordarea terapeutică de prima intenție este de natură medicală, eficiența acesteia fiind limitată la 5 ani. Studii extensive au fost și sunt realizate asupra patogenezei moleculare a acestei afecțiuni. Scopul acestora fiind creșterea numărului opțiunilor terapeutice, a eficacității lor și a tolerabilității lor, obiectivul principal fiind reprezentat de ameliorarea calității vieții pacienților.

Scopul primordial al terapiei antiglaucomatoase este scăderea presiunii intraoculare, aceasta fiind considerată principalul factor de risc în glaucom.

Hipertensiunea oculară poate fi datorată fie unui exces în producția umorii apoase, fie o rezistență crescută la eliminarea acesteia din globul ocular. Rezistența la excreție este întâlnită în cazul blocării ochiurilor trabeculare, obstrucții ce sunt corelate cu modificările apărute la nivelul matricei extracelulare(2). Remodelarea matricei extracelulare este produsă de cantitatea și de activitatea matrix metaloproteinazelor(MMP).

Tema acestui studiu doctoral a fost aleasă prin prisma importanței structurii trabeculare (prin rezistența opusă la eliminarea umorii apoase de la nivelul globului ocular în canalele colectoare) în vederea menținerii presiunii intraoculare în intervalul de valori considerat normal. Restructurarea trabeculară este realizată prin intermediul enzimelor (MMP), iar eficacitatea lor este la rândul ei dependentă de acțiunea inhibitorilor tisulari ai matrix metaloproteinazelor(TIMP). Studiarea complexelor enzimă-inhibitor poate fi un pas spre descoperirea unor noi clase terapeutice.

MMP-urile sunt enzime zinc dependente ce sunt întâlnite în diverse zone ale organismului și au un însemnat rol în remodelare pe lângă multe altele. Din totalitatea MMP-urilor, cele mai des întâlnite la nivel ocular sunt MMP 2, 9 și 13, dar și inhibitorii lor tisulari 1 și 2(3, 4).

## **Fiziopatologia și modificările biochimice produse în glaucoma**

Glaucomul este considerat a fi o patologie multifactorială, iar principalii triggeri sunt hipertensiunea intraoculară și variațiile de presiune la nivelul circulației sanguine a capului nervului optic, aceste modificări ducând la obstrucția fluxului axoplasmatic în axonii celulelor ganglionare și în final la moarte lor(5). Factorii secundari ce duc la excitotoxicitatea celulelor ganglionare sunt glutamatul și glicina, eliberate de celulele lezate, dar și de excesul de oxid nitric și de alte specii reactive de oxygen. Pierderea axonilor duce la modificări morfologice la nivelul capului nervului optic (creșterea raportului cupă-disc) iar pierderea nucleilor celulari duce la modificări morfologice atât la nivel retinian cât și la nivelul corpurilor geniculați latero-dorsali(6, 7).

Pe lângă procesele descrise mai sus la nivelul celulelor ganglionare este întâlnită apoptoza, care este considerată de către unii autori principalul proces de pierdere a celulelor ganglionare. Acest proces care se produce precoce este completat în faza tardivă de necroza celulară. Enzimele care inițiază apoptoza se numesc caspaze (cistein-aspartil proteaze), ele se găsesc în stare de zimogeni inactivi și odată activați produc proteoliza componentelor nucleare și citosolice și în final distrugerea celulei(8).

Valoarea medie a presiunii intraoculare este în jur de 16 mmHg determinată prin aplanotometrie, cu valori normale ce variază între 10-21 mmHg (cu două deviații standard mai mare sau mai mică decât valoarea medie). Creșterea tensiunii oculare peste 24 mmHg în absența unor modificări glaucomatoase decelabile reprezintă sindromul de hipertensiune oculară(7, 9).

Mecanismele moleculare ce apar ca răspuns la hipertensiunea oculară

O posibilă implicare în moartea celulelor ganglionare este atribuită modificărilor ce apar în structura matricei extracelulare de la nivelul retinei ca răspuns la presiunea oculară crescută. Se produce remodelarea componentelor matricei extracelulare incluzând colagenul I și IV, a TGF-beta2 (transforming growth factor-beta2), a matrix metaloproteinazelor 1, 2 și 9(10-12).

Matrix metaloproteinazele sunt enzimele care sunt responsabile de remodelarea matricei. În timpul apoptozei celulelor ganglionare a fost detectată o activitate crescută a MMP-9

Insuficiența vasculară. Moore și colaboratorii(13, 14) au arătat prin studiile făcute legătura dintre migrenă (vasospasm) și glaucom iar Gass(15) a pus în evidență conexiunea

glaucomului cu anomalii vasculare, aici fiind incluse disfuncționalitatea vasculară, atât cerebrală cât și periferică.

Rolul Glutamatului în moartea celulelor ganglionare. O altă cauză ce poate duce la apoptoza celulelor ganglionare este creșterea nivelului retinian de glutamat, ca urmare a hipoxiei retiniene, dar și timpul de expunere prelungit la un nivel crescut de glutamat(16-20)

Atunci când este secretat în cantități fiziologice, oxidul nitric (NO) are un rol benefic dar, pe de altă parte, excesul de NO a fost frecvent asociat cu numeroase patologii neurologice dar și non-neurologice incluzând glaucomul(18-20).

Alterările fluxului sangvin local duc la ischemie și reperfuzie, mecanisme implicate direct în inducerea stresului oxidativ. Odată cu aceste modificări este alterat și endoteliul corneean, astfel ducând la creștea producției și eliminării de NO și a endotelinei-1. Molecule ce produc modificări la nivelul celulelor meșei trabeculare cu implicații în creșterea rezistenței la eliminarea umorii apoase(21, 22).

În GPUD a fost evidențiată scăderea nivelurilor de antioxidanți neenzimatici atât în umoarea apoasă cât și în plasma pacienților afectați.

Matricea extracelulară (ECM) este un element cheie, fiind o rețea de proteine care umple spațiile intercelulare ajutând la menținerea suportului celular dar și la organizarea tisulară. Este foarte importantă menținerea integrității structurii EMC pentru buna funcționare a acesteia. În urma studiilor realizate în ultima perioadă s-a constatat asocierea alterării nivelurilor de metaloproteinaze-2,-3,-14(alterarea remodelării ECM) și apariția fibrozei(23).

MMP-urile aparțin grupului metzincin și sunt endopeptidaze ce au la nivelul domeniului catalitic zinc(II) asociat cu o propeptidă autoinhibitoare. Rolul lor în umoarea apoasă este în remodelarea componentelor EMC, spre exemplu collagen și fibronectină.

Clasificarea MMP-urilor se poate face fie pe baza structurii domeniului fie pe baza tipului de substrat:

- MMP-1, -8, -13 degradează collagenul II, II și III, fiind în categoria collagenaze
- MMP-2, -9, au capacitatea de a degrada gelatin, astfel numindu-se gelatinaze
- MMP-3, -10, 11 se numesc stromelizine, care pe lângă capacitatea lor de a degrada collagenul de tip I mai pot degrada și alte componente ale ECM (fibronectina, gelatin, laminina, proteoglicanii)

- Grup heterogen de MMP-uri ce conține MMP-7 matrilizina, MMP-12 metaloelastaza, MMP-20 enamelizina, MMP-26 endometaza și MMP-28 epilizina

Metaloproteinazele de tip membranal sunt considerate o clasă separată indiferent de substratul lor(24)

La nivel ocular MMP-urile joacă un rol important în reorganizarea ECM și prin urmare în modificarea rezistenței la eliminarea umorii apoase și menținerea PIO sub control. Prin remodelarea EMC și a meșei trabeculare MMPs-urile sunt direct implicate în variațiile rezistenței la eliminare umoarea apoasă din ochi și în consecință a oscilațiilor PIO. Prin urmare MMPs pot fi noi ținte terapeutice în tratamentul glaucomului(25). Variațiile PIO sunt resimțite de celulele meșei trabeculare prin intermediul sistemului ECM –integrină (prin destinderea structurilor semiporoase). În cazul alterării PIO, celulele din această zonă sunt stimulate de modificările mecanice produse și au ca rezultat creșterea secreției de MMP-2, -3 și -14 și scăderea concentrației inhibitorilor, având ca efect alterarea raportului MMP/TIMP rezultând în creșterea turn-overului celular și restaurarea PIO normale(10, 11, 26, 27). Aceste modificări apar în numeroase zone, nu doar în joncțiunea justa-canaliculară dar și în zona corneo-sclerală a trabeculului și a calalului Schlemm(10, 28).

Atât în GPUD cât și în glaucomul pseudoexfoliativ s-a constatat un dezechilibru între MMP-uri și inhibitorii lor la nivelul umorii apoase. Raportul între MMP/ TIMP este de 1:1 în ochii normali pe când în ochii glaucomatoși înclină spre o creștere a TIMP, ceea ce duce la acumularea continuă de componente și nivelul meșei trabeculare(29-31). Inhibitorii tisulari ai matrix metaloproteinazelor (TIMP) au gene la nivelul genomului uman, cele 4 tipuri de gene codifică TIMPs 1, 2, 3 și 4. Activitatea lor este variată, fiind implicați în creșterea, diferențierea și migrarea celulară, în apoptoză (favorizând-o sau inhibând-o) dar și în plasticitatea sinapselor(32, 33). Multiple studii au demonstrat corelația între mecanismul inhibitor al TIMPs și numeroasele zone prin care ele interacționează cu enzimele țintă , inhibând astfel selectiv numeroase MMP-uri(34).

## **Contribuții personale**

Premisa de la care a plecat acest studiu este importanța socio-economică reprezentată de consecințele afectării glaucomului, considerat de către WHO(1) principala cauză de orbire ireversibilă, reprezintă o bună motivare în cercetarea de noi modalități de abordare a tratamentului.

Ideea studiului a pornit din necesitatea dezvoltării științifice în fața unei patologii frecvent întâlnită în populația generală și cu consecințe marcante atât pentru pacienți cât și socio-economic.

### **Studiu privind evaluarea MMP-urilor în umoarea apoasă și plasma pacienților cu glaucom**

#### **Scopul**

Studiul clinic desfășurat s-a axat pe evaluarea cantitativă a complexelor MMP2/TIMP1 MMP9/TIMP2 dar și a activității MMP-urilor 2 și 9 în umoarea apoasă și în plasma pacienților cu glaucom.

Studiul clinic privind evaluarea MMP-urilor în umoarea apoasă și plasma pacienților cu glaucom a fost realizat în cadrul Clinicii de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București, în perioada ianuarie 2014- ianuarie 2015, fiind de tip prospectiv.

#### **Material și metodă**

În studiu au fost incluși pacienții internați în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență, București, în vederea operației de cataractă. Loturile au fost formate dintr-o populație cu proveniență atât din mediul urban cât și rural, cu statut socio-economic diferit și de etnii diferite.

- Primul lot- lotul de control a fost alcătuit din 35 de pacienți, cu cataractă
- Al doilea lot- lotul de studiu cuprinde 35 de pacienți cu cataractă și glaucom

Criteriile de includere a pacienților în studiu, au fost următoarele:

- pacienți cu vârsta peste 50 de ani, indiferent de sex;
- pacienți cu glaucom primitiv cu unghi deschis (indiferent de tratamentul local antiglaucomatos administrat) și cataractă în lotul de studiu;
- pacienți cu cataractă în lotul martor;



- fără intervenții chirurgicale oculare în antecedente personale patologice;

Criteriile de excludere au fost reprezentate de:

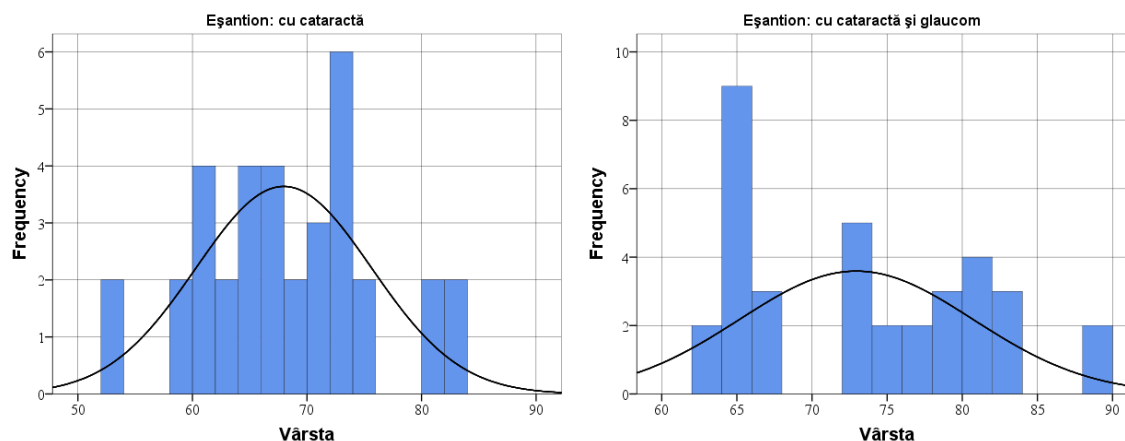
- pacienți sub vârsta de 50 de ani;
- alte tipuri de glaucom (cu unghi închis sau secundar)
- alte afecțiuni oculare asociate;
- antecedente de traumatisme oculare și intervenții chirurgicale;
- afecțiuni sistemice infecțioase;
- afecțiuni ce pot crește riscul complicațiilor (neoplasme, pacienți imunodeprimați, accident vascular cerebral, infarct miocardic în ultimele 6 luni);
- boli mentale;

Studiul s-a desfășurat respectând anonimatul pacienților, cât și protecția datelor cu caracter personal. Comisia de Bioetică a Spitalului Universitar de Urgență, București a avizat favorabil desfășurarea acestui studiu pe baza unui consimțământ informat în conformitate cu prevederile Declarației de la Helsinki privitoare la studiile realizate pe țesut uman. Pacienții au semnat un consimțământ informat, după ce în prealabil le-au fost aduse la cunoștință scopul studiului și a prelevării materialului biologic (sânge, umoare apoasă), tehnica și riscurile inerente. Un examen oftalmologic minuțios a fost efectuat fiecărui pacient în parte. Determinare activității enzimatică (MMP2, MMP9) atât din umoarea apoasă, cât și din plasmă a fost realizată prin Zimografie. Determinarea cantitativă a rațiilor MMP-2/ TIMP-1 și MMP-9/ TIMP-2 prin intermediul tehnicii ELISA.

Colectarea și analiza datelor s-a realizat în mod anonim. Variabilele studiate au fost următoarele: demografice (sex, vârstă, mediul de proveniență); elementele examenului clinic și investigațiile paraclinice ale pacienților cu glaucom, medicația topică antiglaucomatoasă administrată, condiții și comorbidități asociate. Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul softului SPSS.20. Pragul pentru care datele sunt semnificative a fost stabilit la  $p < 0.05$

## **Rezultate**

S-a constatat că vârsta medie a persoanelor din eșantionul pacienților cu cataractă este de 67,97 ani $\pm$  7,67ani pe când în cazul eșantionului pacienților cu glaucom, vârsta medie a fost de 72,94 de ani.



Repartiția pe sexe a arătat că eșantionul pacienților cu cataractă cuprinde subiecți din ambele sexe, reprezentanții sexului masculin fiind în proporție de 54,3%, în timp ce reprezentantele sexului feminin în proporție de 45,7%. În cazul eșantionului pacienților cu glaucom ponderea sexului masculin este mult mai mică 34,3%, în timp ce a sexului feminin este de 65,7%.

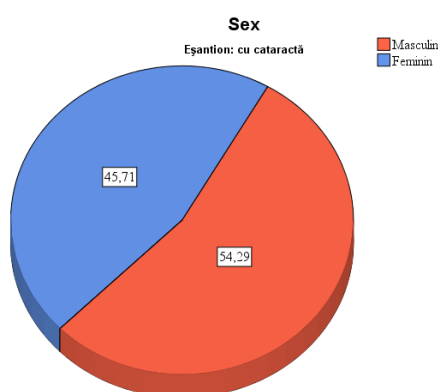


Fig. 5.3.

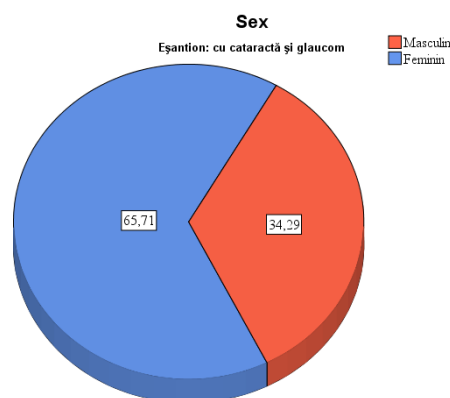


Fig. 5.4.

Pacienții din cele două eșantioane provin în proporții aproape egale din cele două medii: urban și rural. În cazul celor cu cataractă 51,4% provin din mediul urban, în timp ce în cazul celor cu glaucom 57,1% provin din mediul urban.

În ceea ce privește fumatul, ponderea nefumătorilor este egală în cele două eșantioane 45,7%. În eșantionul pacienților cu glaucom 54,3% sunt fumători, în timp ce în cazul pacienților cu cataractă procentul se împarte între foștii fumători (14,3%) și fumători (40%).

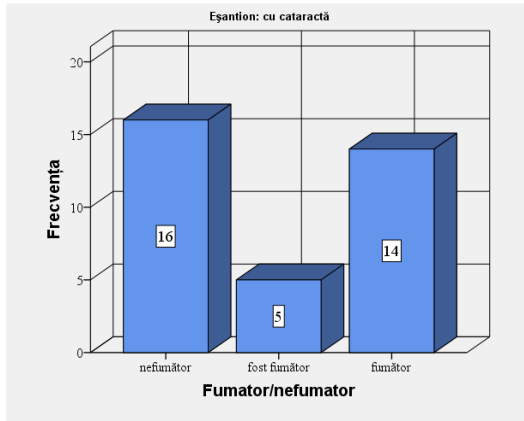


Fig. 5.7.

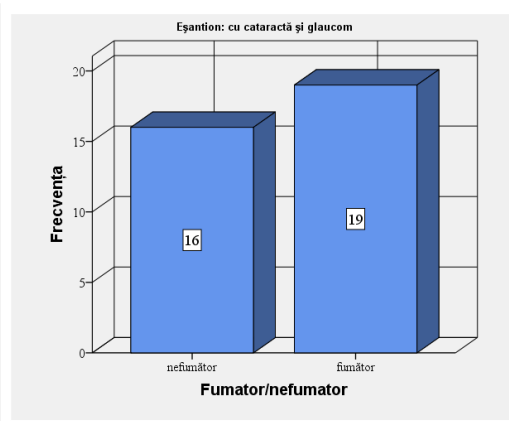


Fig. 5.8.

În cazul pacienților cu cataractă, majoritatea (72%) au ca antecedente personale patologice hipertensiunea arterială. La distanță mare urmează dislipidemia și astmul bronșic, cu o pondere de 16% fiecare din totalul pacienților din eșantion.

În cazul pacienților cu glaucom, absolut toți au în antecedentele heredo-colaterale glaucomul. 74,3% dintre ei au în antecedentele personale patologice HTA, iar 34,3% dislipidemie.

Aproape jumătate (42,9%) din eșantionul pacienților cu glaucom beneficiază de terapie triplă, iar 37,1% beneficiază de dublă terapie. Doar 20% beneficiază de terapie singulară.

*Clasele de medicamente*

Eșantion		Frecvența	Procent	Procent din datele validate	Procent cumulat
cu cataractă și glaucom	Date validate	terapie singulară	7	20,0	20,0
		dublă terapie	13	37,1	57,1
		terapie triplă	15	42,9	100,0
		Total	35	100,0	100,0

Tabel 5.6.

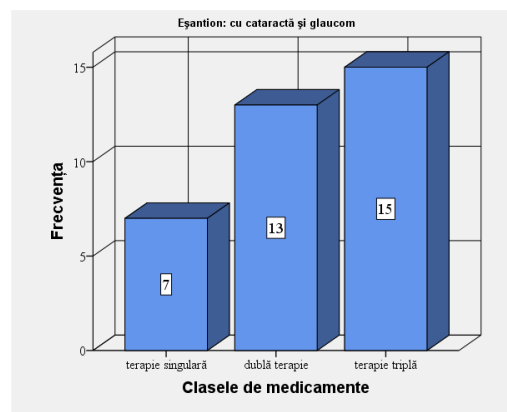


Fig. 5.9.

Informațiile oftalmologice obținute în urma examenului oftalmologic amănunțit:

În ceea ce privește acuitatea vizuală a ochiului operat, în ambele eșantioane ponderea problemelor de acuitate vizuală sunt aproximativ aceleași.

Valoare medie a presiunii intraoculare în cazul pacienților cu cataractă se situează la 12,66. Valorile presiunii intraoculare în cazul pacienților cu glaucom au fost cuprinse între 10 și 30. Valoarea medie a fost de 17,43, în timp ce valoarea care apare cel mai frecvent a fost de 16. Pentru a compara valorile medii ale presiunii intraoculare între pacienții cu cataractă și pacienții cu glaucom, am folosit testul t pentru eșantioane independente. Întrucât  $p < 0,001$  se acceptă ipoteza H1, adică există o diferență semnificativă între pacienții cu cele două afecțiuni în ceea ce privește valorile medii ale presiunii intraoculare. În cazul pacienților cu glaucom nivelul presiunii intraoculare este semnificativ mai ridicat decât în cazul pacienților cu cataractă.

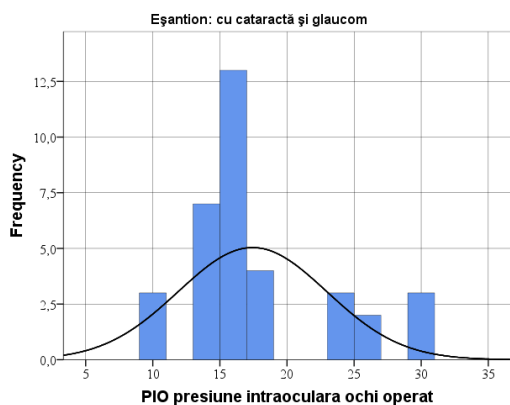


Fig5.13.

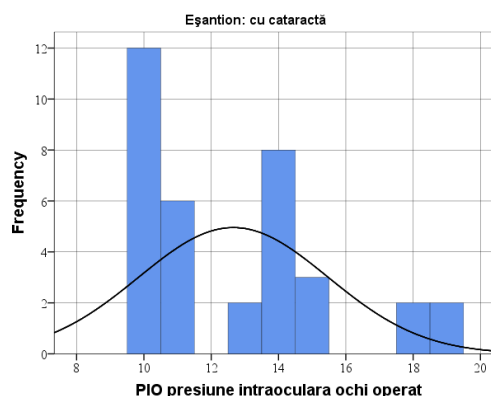


Fig. 5.14.

Numărul celulelor endoteliale în cazul pacienților cu cataractă ia valori cuprinse între 1200 și 2761. Numărul mediu este de 2198,06, în timp ce valoarea care apare cel mai frecvent la pacienți este de 2380. În cazul pacienților cu glaucom, numărul mediu al celulelor endoteliale este de 2134,31, variind de la 1500 până la 2692. Diferența dintre valorile medii ale numărului de celule endoteliale pentru cele două eșantioane nu este semnificativă statistic.

Analizând rezultatele examinării fundului de ochi, se constată prezența preponderentă (40%) a unor modificări ce implică hipertensiunea (angioscleroza) în cazul pacienților din lotul martor, în timp ce în cazul eșantionului pacienților cu glaucom se constată o pondere mai mare ale valorilor raportului C/D ce indică afectare medie (40% dintre pacienți) și afectare severă (14,3% dintre pacienți).

În timp ce la lotul maritor ponderea cea mai mare o au modificările legate de cataractă (51,4%), la lotul pacienților cu glaucom apar pe lângă modificările legate de cataractă (22,9% dintre pacienți) și modificări legate de glaucom (14,3%).

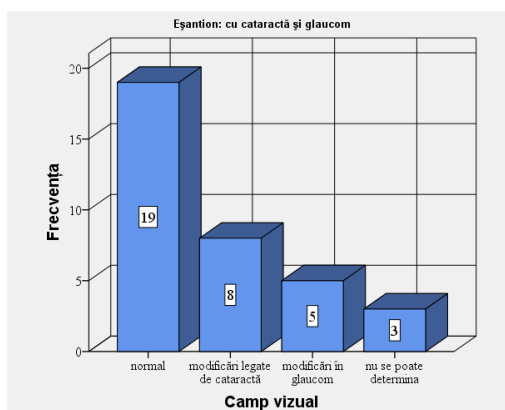


Fig. 5.22.

#### Rezultatele analizelor

Se constată că valoarea medie a glicemiei la persoanele din eșantionul pacienților cu cataractă este de 95,94. Valorile se abat de la medie în plus sau în minus cu 15,059. În cazul eșantionului pacienților cu glaucom, valoarea medie a glicemiei a fost de 100,77, cu un minim de 67 și un maxim de 120.

Valoare medie a LDL în cazul pacienților cu cataractă se situează la 152,29. Valorile LDL în cazul pacienților cu glaucom au fost cuprinse între 78 și 190. Valoarea medie a fost de 127,37, în timp ce valoarea care apare cel mai frecvent a fost de 132.

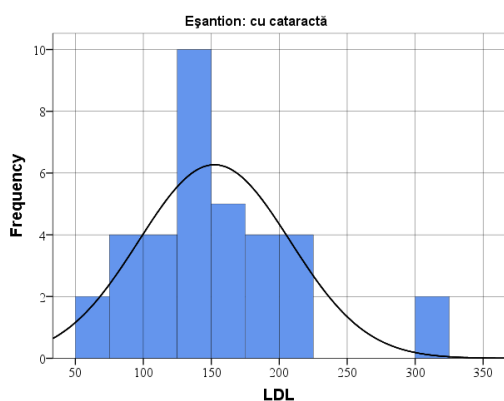


Fig. 5.25.

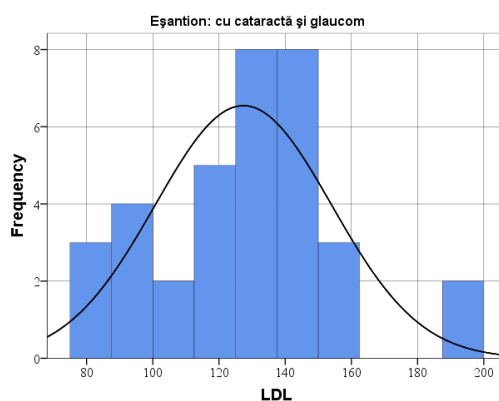


Fig. 5.26.

HDL în cazul pacienților cu cataractă ia valori cuprinse între 21 și 58. Valoarea medie este de 39,46, în timp ce valoarea care apare cel mai frecvent la pacienți este de 38.

În cazul pacienților cu glaucom, valoarea medie a HDL este de 40.83, variind de la 25 până la 59.

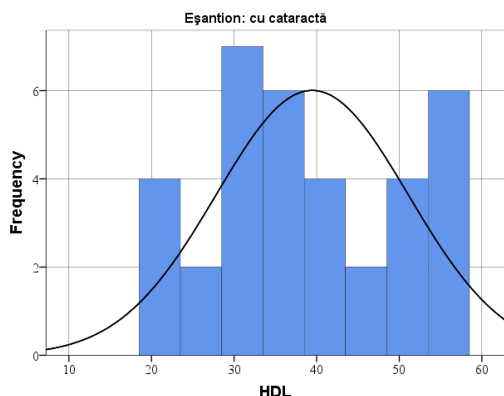


Fig. 5.27.

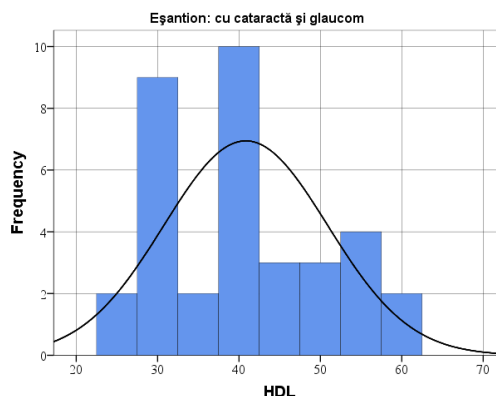


Fig. 5.28.

Colesterolul are o valoare medie ușor mai ridicată în cazul pacienților cu glaucom (185,49) comparativ cu pacienții cu cataractă, pentru care valoarea medie este de 179,49.

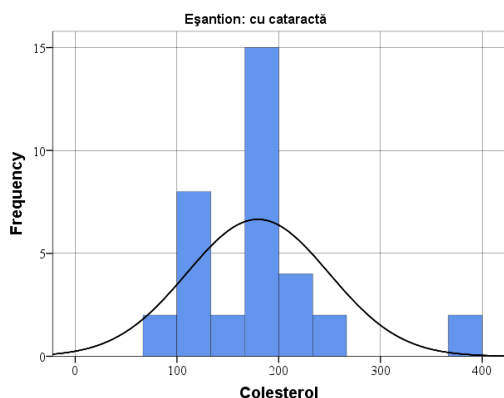


Fig. 5.30.

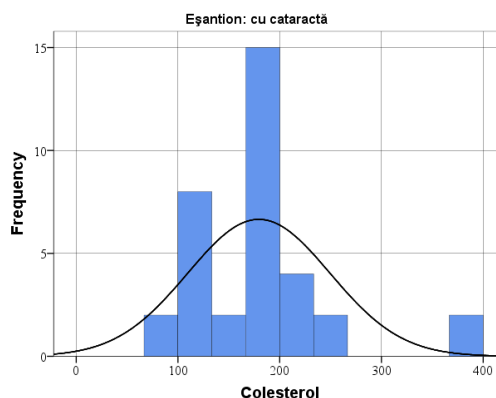


Fig. 5.31.

Nu s-au constatat modificări semnificative între cele două loturi nici în cazul markerilor inflamatori examinați (VSH și PCR).

*Corelații între raportul MMP2/TIMP1 din umoarea apoasa comparat cu plasma.* Pentru a determina relația dintre raportul MMP2/TIMP1 din umoarea apoasa și raportul MMP2/TIMP1 din plasmă am folosit coeficientul de corelație Spearman. S-a observat prezența unei corelații semnificative statistic între raportul MMP2/TIMP1 din umoarea apoasa, pe de o parte, și raportul MMP2/TIMP1 din plasmă, pe de cealaltă parte, în cazul lotului pacienților cu glaucom ( $\rho=0,370$ ;  $p=0,048$ ). Pe măsura creșterii raportului

MMP2/TIMP1 din umoarea apoasă, crește și raportul MMP2/TIMP1 din plasmă în cazul pacienților cu glaucom.

*Corelații între raportul MMP2/TIMP1 din umoarea apoasă comparat cu plasma*

Eșantion		MMP2/ TIMP1 plasmă		
Spearman's rho	cu cataractă umoare	MMP2/TIMP1	Coeficientul de corelație	-,170
		umoare	Pragul de semnificație p	,417
	cu cataractă și glaucom	MMP2/TIMP1	N	25
		umoare	Coeficientul de corelație	,370*
			Pragul de semnificație p	,048
			N	29

\*. Corelația este semnificativă pentru un prag de 0.05

Tabel 5.34.

*Corelații între raportul MMP9/TIMP2 din umoarea apoasă comparat cu plasma.* Întrucât nivelurile de semnificație obținute sunt mai mari decât nivelul standard de 0.05, corelația dintre raportul MMP9/TIMP2 din umoarea apoasă și raportul MMP9/TIMP2 din plasmă nu este semnificativă statistic pentru nici unul din cele două loturi studiate.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de clasele de antiglaumatoase în cazul lotului cu glaucom.* În cazul raportului MMP2/TIMP1 umoare apoasă se constată valori semnificativ mai mari la persoanele cu dublă terapie (m=557,80), în timp ce la persoanele cu terapie triplă se constată valori semnificativ mai scăzute (m=3743,13).

*Statistici descriptive*

		N	Media	Abaterea standard	Minim	Maxim
MMP2/TIMP1 umoare	terapie singulară	7	422,614	148,3892	284,5	580,3
	dublă terapie	9	557,800	56,2412	485,7	611,7
	terapie triplă	13	374,138	83,4408	273,1	452,1
	Total	29	442,838	123,0757	273,1	611,7
MMP2/TIMP1 plasmă	terapie singulară	7	236,4429	60,18432	162,90	295,50
	dublă terapie	9	208,2667	18,02256	186,60	228,10
	terapie triplă	13	198,6846	21,80611	152,80	220,10
	Total	29	210,7724	36,15754	152,80	295,50
MMP9/TIMP2	terapie singulară	7	1,01014	,193473	,757	1,189

umoare	dublă terapie	9	,65700	,475755	,146	1,238
	terapie triplă	13	,71092	,679510	,231	2,147
	Total	29	,76641	,539171	,146	2,147
MMP9/TIMP2 plasmă	terapie singulară	7	,71586	,785863	,007	1,553
	dublă terapie	9	,08100	,009760	,068	,088
	terapie triplă	13	,07646	,010228	,056	,087
	Total	29	,23221	,457713	,007	1,553

În cazul raportului MMP9/TIMP2 plasmă se constată valori medii semnificativ mai crescute în cazul celor cu terapie singulară ( $m=0,715$ ) comparativ cu cei cu terapie dublă ( $m=0,081$ ) sau triplă ( $m=0,076$ ).

Tabel 5.36.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de presiunea intraoculară (PIO) în cazul lotului cu glaucom.* Prin analiza de corelație bivariată, bazată pe coeficientul de corelație Spearman, s-a observat lipsa unor legături semnificative statistice între rapoartele MMP2/TIMP1 și MMP9/TIMP2, pe de o parte, și presiunea intraoculară, pe de altă parte.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de numărul de celule endoteliale în cazul lotului cu glaucom,* O corelație pozitivă, de intensitate medie, se constată doar între raportul MMP9/TIMP2 umoare și numărul de celule endoteliale.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de analizele periferice în cazul lotului cu glaucom*

Prin analiza de corelație bivariată, bazată pe coeficientul de corelație Spearman, s-a observat următoarelor corelații semnificative statistice:

- între raportul MMP2/TIMP1 umoare apoasă și nivelul RBC ( $\rho=-0,622$ ;  $p=0,001$ )
- între raportul MMP2/TIMP1 umoare apoasă și nivelul HB ( $\rho=-0,595$ ;  $p=0,001$ )
- între raportul MMP9/TIMP2 umoare apoasă și nivelul WBC ( $\rho=0,739$ ;  $p=0,001$ )
- între raportul MMP9/TIMP2 umoare apoasă și nivelul RBC ( $\rho=-0,550$ ;  $p=0,002$ )
- între raportul MMP9/TIMP2 umoare apoasă și nivelul HB ( $\rho=-0,549$ ;  $p=0,002$ )

Relația dintre raportul MMP9/TIMP2 umoare apoasă și nivelul WBC este una pozitivă, ceea ce arată că o creștere a nivelului WBC este însoțită de o creștere a raportului MMP9/TIMP2 umoare. Celelalte corelații sunt negative, creșterea uneia dintre variabile fiind însoțită de scăderea celeilalte.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de calitatea de fumător/nefumător în cazul lotului cu glaucom.* Rezultatul analizei ANOVA One-Way a



arătat că există diferențe semnificative statistic între fumători și nefumători în ceea ce privește nivelul raportului MMP2/TIMP1 umoare ( $F=5,686$ ;  $p=0,024$ ), nivelul raportului MMP2/TIMP1 plasmă ( $F=7,212$ ;  $p=0,012$ ) și nivelul raportului MMP9/TIMP2 plasmă ( $F=4,423$ ;  $p=0,045$ ).

*Statistici descriptive*

		N	Media	Abaterea standard	Minim	Maxim
MMP2/TIMP1 umoare	nefumător	14	495,050	90,1440	324,2	580,3
	fumător	15	394,107	132,2093	273,1	611,7
	Total	29	442,838	123,0757	273,1	611,7
MMP2/TIMP1 plasmă	nefumător	14	227,6571	42,32804	162,90	295,50
	fumător	15	195,0133	19,99667	152,80	221,40
	Total	29	210,7724	36,15754	152,80	295,50
MMP9/TIMP2 umoare	nefumător	14	,60800	,423727	,146	1,189
	fumător	15	,91427	,605122	,231	2,147
	Total	29	,76641	,539171	,146	2,147
MMP9/TIMP2 plasmă	nefumător	14	,40686	,622027	,068	1,553
	fumător	15	,06920	,027394	,007	,088
	Total	29	,23221	,457713	,007	1,553

Tabel 5.45.

*Raportul MMP2/TIMP1 și raportul MMP9/TIMP2 în funcție de vârstă în cazul lotului cu glaucom.* Se observă prezența unei corelații negative și semnificative statistic între raportul MMP2/TIMP1 umoare apoasă, pe de o parte, și vârstă, pe de altă parte ( $\rho=-0.439$ ,  $n=29$ ,  $p=0,017$ ). Putem spune că pe măsura creșterii vârstei, scade nivelul raportului MMP2/TIMP1 umoarea apoasă. Aceeași relație semnificativă statistic o întâlnim și între raportul MMP9/TIMP2 plasmă și vârstă ( $\rho=-0.504$ ,  $n=29$ ,  $p=0,005$ ). O vârstă înaintată este însoțită de scăderea raportului MMP9/TIMP2 plasmă la persoanele cu glaucom.

*Statistici descriptive*

		N	Media	Abaterea standard	Minim	Maxim
MMP2/TIMP1 umoare	Masculin	10	414,530	78,6775	275,8	485,7
	Feminin	19	457,737	140,6713	273,1	611,7
	Total	29	442,838	123,0757	273,1	611,7
MMP2/TIMP1	Masculin	10	195,2000	22,58785	152,80	210,10

plasmă	Feminin	19	218,9684	39,66042	162,90	295,50
	Total	29	210,7724	36,15754	152,80	295,50
MMP9/TIMP2 umoare	Masculin	10	,95540	,638259	,533	2,147
	Feminin	19	,66695	,467156	,146	1,238
MMP9/TIMP2 plasmă	Total	29	,76641	,539171	,146	2,147
	Masculin	10	,07420	,012444	,056	,087
	Feminin	19	,31537	,551945	,007	1,553
	Total	29	,23221	,457713	,007	1,553

Tabel 5.46.

### Concluzii

1. În cazul pacienților cu glaucom, există o predominanță a sexului feminin. Cu toate acestea nu s-au observat semnificații semnificative statistic între sexul pacienților și modificările apărute la nivelul rapoartelor enzimă-inhibitor studiate.

2. Valorile crescute ale raportului MMP2/TIMP1 ce apar atât la nivelul umorii apoase cât și la nivel plasmatic ale pacienților cu glaucom sunt corelate cu modificările ce apar la nivelul LDL.

3. Raportul MMP9/TIMP2 nu aduce informații noi, acesta nemodificându-se

4. În funcție de terapia administrată local pot apărea modificări la nivelul compoziției umorii apoase a MMP-urilor, astfel în acest studiu s-a demonstrat că Raportul MMP2/TIMP1 crește în dublă terapie, scăzând în triplă terapie.

5. Compararea valorilor PIO cu rapoartele cercetate nu a adus informații suplimentare, nici unul dintre rapoarte necorelându-se modificările ce apar la nivelul PIO.

6. Am constatat ca nu au apărut modificări în numărul și nici în morfologia celulelor endoteliale, indiferent de medicația topică administrată. Nu am constatat modificări (morfologice sau cantitative) la nivelul celulelor endoteliale nici în funcție de rapoartele studiate.

7. Corelațiile făcute între modificările patologice ce apar pe câmpul vizual sunt corelate pozitiv cu nivelul de MMP2/TIMP1 din umoarea apoasă.

8. De asemenea s-a constatat că rapoartele studiate apar scăzute în cazul pacienților fumători atât la nivelul umorii apoase cât și la nivel plasmatic.

9. Modificările rapoartelor MMP2/TIMP 1 și MMP9/TIMP 2 scad cu înaintarea în vârstă, această corelație deschide noi orizonturi de cercetare.

## **Studiu retrospectiv privind modificările apărute la nivelul profilului lipidic plasmatic și determinarea frecvenței hipertensiunii arteriale în cazul pacienților cu glaucom tratați prin medicație topică sau chirurgical**

### **Ipoteza de lucru și obiective specifice**

Scopul studiului a fost de a găsi o corelația între glaucom (o neuropatie optică degenerativă) în diferite stadii de boală și modificările ce apar în profilul lipidic, dar și stabilirea asocierii cu hipertensiunea arterială (HTA).

Studiul a fost realizat în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București în perioada ianuarie 2010- decembrie 2016 și a fost un studiu de tip retrospectiv.

### **Material și metodă**

În studiu au fost incluși pacienții cu glaucom primitiv cu unghi deschis internați în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență, București. Cohorta a fost alcătuită dintr-o populație cu mediu de proveniență diferit (urban/rural) cu statut socio-economic și de etnie diferită.

Grupul de studiu a fost alcătuit din 2350 de pacienți.

Pentru fiecare lot, criteriile de eligibilitate au fost următoarele:

- pacienți suferind de glaucom primitiv cu unghi deschis,
- cu o vârstă mai mare de 40 de ani, indiferent sex;
- pacienți cu glaucom primitiv cu unghi deschis (indiferent de tratamentul local antiglaucomatos administrat);
- fără intervenții chirurgicale sau traumatisme oculare în antecedente personale patologice;

Nu au fost incluși în studiu pacienți cu alte tipuri de glaucom (cu unghi închis sau secundar), cu alte maladii oculare asociate. Au fost excluși pacienții cu boli sistemice grave (neoplasme, pacienși imunodeprimați) și pacienții cu boli infecțioase (hepatită, herpes, HIV).

Studiul s-a desfășurat respectând anonimatul pacienților cât și protecția datelor cu caracter personal.

S-au analizat numărul total de pacienți cu glaucom pe fiecare an, vârsta medie a pacienților, variabilitatea în funcție de sex, mediul de proveniență, modificările apărute în profilul lipidic, comorbiditățile asociate.

## Rezultate

Comparație între pacienții ce au necesitat o intervenție chirurgicală și pacienții cu glaucom ce nu au necesitat intervenție în ceea ce privește vârsta. Se constată că vârsta medie a persoanelor ce au necesitat o intervenție chirurgicală este de 68,06 ani. În cazul pacienților cu glaucom ce nu au necesitat intervenție, vârsta medie a fost de 69,25 de ani, cu un minim de 40 de ani și un maxim de 102 ani.

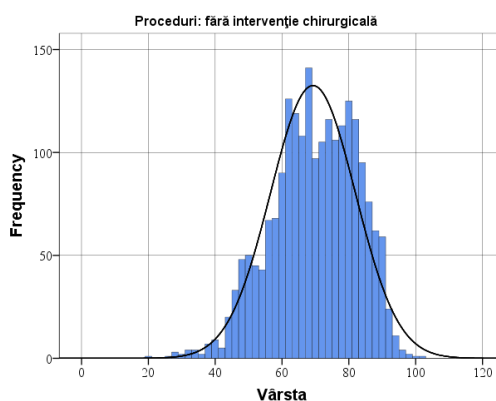


Fig. 6.2.

Comparație între pacienții ce au necesitat o intervenție chirurgicală și pacienții cu glaucom ce nu au necesitat intervenție în ceea ce privește sexul. Eșantionul pacienților ce au necesitat o intervenție chirurgicală cuprinde subiecți din ambele sexe, reprezentanții sexului masculin fiind în proporție de 48,8%, în timp ce reprezentantele sexului feminin în proporție de 51,2%. În cazul eșantionului pacienților cu glaucom ce nu au necesitat intervenție ponderea sexului masculin este de 39%, în timp ce a sexului feminin este de 61%.

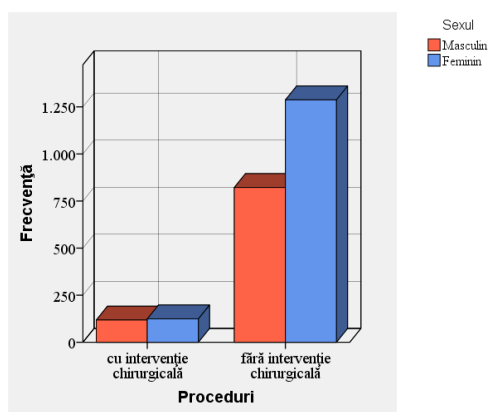


Fig. 6.3

*Comparație între pacienții ce au necesitat o intervenție chirurgicală și pacienții cu glaucom ce nu au necesitat intervenție în ceea ce privește patologiile asociate.* În cazul pacienților ce au necesitat o intervenție chirurgicală, majoritatea (59,8%) au ca boală asociată hipertensiunea arterială. Urmează cataracta senilă (33%), diabetul tip 2 (21,6%), cataracta senilă incipientă (17,5%) și DMLA cu 12,4%. În cazul pacienților cu glaucom ce nu au necesitat intervenție, majoritatea (56,2%) au ca diagnostic secundar HTA, apoi mai pot fi întâlnite: diabetul tip 2 (19,2%), DMLA (18,4%), cataracta senilă (17,7%), cataracta senilă incipientă (17,5%) și hipermetropia (17,3%).

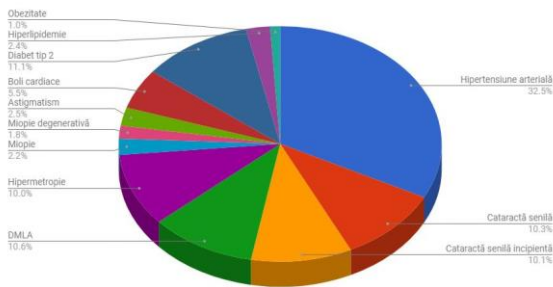


Fig. 6.5.

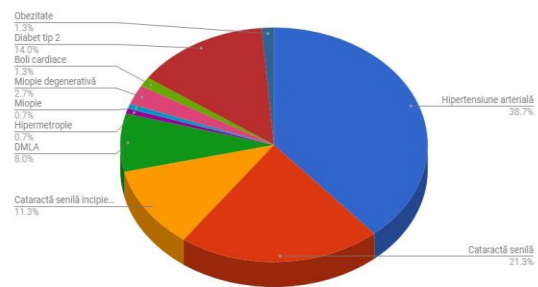


Fig. 6.6.

Se observă că în cazul LDL, HDL și trigliceridelor există diferențe semnificative statistic între pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală și cei ce nu au necesitat intervenție. Astfel, valoarea medie a LDL este semnificativ mai scăzută ( $m=154,74$ ) la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală comparativ cu cei ce nu au necesitat intervenție ( $m=165,67$ ). Același lucru este valabil și în cazul HDL, unde valoarea medie este semnificativ mai scăzută la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală.

În cazul trigliceridelor, însă, valoarea medie ( $m=224,31$ ) este semnificativ mai crescută la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală comparativ cu pacienții ce nu au necesitat intervenție ( $m=211,61$ ).

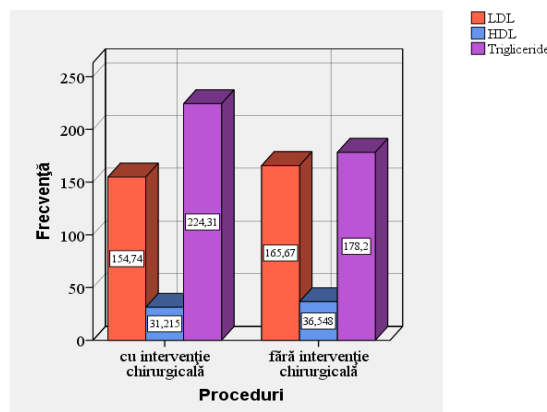


Fig. 6.7.

### **Concluzii:**

1. S-a constatat că vârsta medie a persoanelor ce au necesitat o intervenție chirurgicală este de 68,06 ani +/- 13,10ani, pe când vârsta media a persoanelor internate ce nu au necesitat intervenție chirurgicală pentru atingerea PIO țintă a fost de 69,25

2. Pacienții de sex feminin sunt mai bine reprezentați în ambele loturi studiate. Nu s-au constatat diferențe semnificative în ceea ce privește mediul de proveniență, exista o ușoară predominanță a mediului urban cu un procent de 50,7%.

3. Comorbiditățile asociate în cazul pacienților ce au necesitat intervenția chirurgicală, marea majoritate au ca boală asociată hipertensiunea arterială, fiind urmași de următoarele diagnostice secundare cataractă senilă (într-o proporție de 33%), diabetul de tip 2 (21,6%). În cazul pacienților cu glaucom ce nu au necesitat intervenție, majoritatea (56,2%) au ca diagnostic secundar HTA, apoi mai pot fi întâlnite: diabetul tip 2 (19,2%), DMLA (18,4%) și doar într-o proporție de 17,7% cataracta senilă.

4. Din punct de vedere al profilului lipidic s-a observat că la nivelul următoarelor determinări LDL, HDL și trigliceridelor există diferențe semnificative statistic între pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală și cei ce nu au necesitat intervenție. Astfel, valoarea medie a LDL este semnificativ mai scăzută la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală comparativ cu cei ce nu au necesitat intervenție. Același lucru este valabil și în cazul HDL, unde valoarea medie este semnificativ mai scăzută la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală. În cazul trigliceridelor, însă, valoarea medie este semnificativ mai crescută la pacienții ce au necesitat intervenție chirurgicală comparativ cu pacienții ce nu au necesitat intervenție.

## **Bibliografie selectivă**

1. <http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/feature1104/en/> 2004 [
2. Yanoff MD, J. S. Ophthalmology: Elsevier Health Sciences; 2009. 1528 p.
3. Alexander JP, Samples JR, Van Buskirk EM, Acott TS. Expression of matrix metalloproteinases and inhibitor by human trabecular meshwork. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1991;32(1):172-80.
4. Atanasiu VB. Biochimie medicală. București: Editura Universitară "Carol Davila "; 2008. 480 p.
5. Schnyder CM, A. Glaucoma: Elsevier; 2005. 464 p.
6. Georgopoulos G, Andreanos D, Liokis N, Papakonstantinou D, Vergados J, Theodosiadis G. Risk factors in ocular hypertension. Eur J Ophthalmol. 1997;7(4):357-63.
7. Giaconi JAL, S. K. Coleman A. L. Caprioli J. . Pearls of Glaucoma Management: Springer; 2010. 469 p.
8. Ethell IM, Ethell DW. Matrix metalloproteinases in brain development and remodeling: synaptic functions and targets. Journal of neuroscience research. 2007;85(13):2813-23.
9. Kanski JJ. Clinical ophthalmology : a systematic approach. 6th edition ed. New York: Elsevier; 2007. 931 p.
10. Bradley JM, Kelley MJ, Zhu X, Anderssohn AM, Alexander JP, Acott TS. Effects of mechanical stretching on trabecular matrix metalloproteinases. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001;42(7):1505-13.
11. Bradley JM, Vranka J, Colvis CM, Conger DM, Alexander JP, Fisk AS, et al. Effect of matrix metalloproteinases activity on outflow in perfused human organ culture. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998;39(13):2649-58.
12. Brandt JD, O'Donnell ME. How does the trabecular meshwork regulate outflow? Clues from the vascular endothelium. Journal of glaucoma. 1999;8(5):328-39.
13. Gauthier AC, Liu J. Neurodegeneration and Neuroprotection in Glaucoma. The Yale journal of biology and medicine. 2016;89(1):73-9.
14. Kosior-Jarecka E, Wrobel-Dudzinska D, Lukasik U, Zarnowski T. Ocular and Systemic Risk Factors of Different Morphologies of Scotoma in Patients with Normal-Tension Glaucoma. Journal of ophthalmology. 2017;2017:1480746.
15. Gass A, Flammer J, Linder L, Romerio SC, Gasser P, Haefeli WE. Inverse correlation between endothelin-1-induced peripheral microvascular vasoconstriction and

blood pressure in glaucoma patients. Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie. 1997;235(10):634-8.

16. Fu CT, Sretavan DW. Ectopic vesicular glutamate release at the optic nerve head and axon loss in mouse experimental glaucoma. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2012;32(45):15859-76.

17. Wang ZF, Yang XL. [Glutamate receptor-mediated retinal neuronal injury in experimental glaucoma]. Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]. 2016;68(4):483-91.

18. Emam WA, Zidan HE, Abdulhalim BE, Dabour SA, Ghali MA, Kamal AT. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to high-tension primary open-angle glaucoma in an Egyptian cohort. Molecular vision. 2014;20:804-11.

19. Wang X, Ng YK, Tay SS. Factors contributing to neuronal degeneration in retinas of experimental glaucomatous rats. Journal of neuroscience research. 2005;82(5):674-89.

20. Wu R, Yao K, Flammer J, Haefliger IO. Role of anions in nitric oxide-induced short-circuit current increase in isolated porcine ciliary processes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45(9):3213-22.

21. Chung HJ, Hwang HB, Lee NY. The Association between Primary Open-Angle Glaucoma and Blood Pressure: Two Aspects of Hypertension and Hypotension. BioMed research international. 2015;2015:827516.

22. Gherghel D, Griffiths HR, Hilton EJ, Cunliffe IA, Hosking SL. Systemic reduction in glutathione levels occurs in patients with primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005;46(3):877-83.

23. Yang X, Hondur G, Tezel G. Antioxidant Treatment Limits Neuroinflammation in Experimental Glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016;57(4):2344-54.

24. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. Amino acids. 2011;41(2):271-90.

25. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960). 2002;120(10):1268-79.

26. Vittitow J, Borrás T. Genes expressed in the human trabecular meshwork during pressure-induced homeostatic response. Journal of cellular physiology. 2004;201(1):126-37.



27. WuDunn D. The effect of mechanical strain on matrix metalloproteinase production by bovine trabecular meshwork cells. *Current eye research*. 2001;22(5):394-7.
28. Fleenor DL, Pang IH, Clark AF. Involvement of AP-1 in interleukin-1alpha-stimulated MMP-3 expression in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(8):3494-501.
29. Cellini M, Leonetti P, Strobbe E, Campos EC. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors after selective laser trabeculoplasty in pseudoexfoliative secondary glaucoma. *BMC ophthalmology*. 2008;8:20.
30. Schlotzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kuchle M, Konstas AG, Naumann GO. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(3):1117-25.
31. Djordjevic-Jocic J, Zlatanovic G, Veselinovic D, Jovanovic P, Djordjevic V, Zvezdanovic L, et al. Transforming growth factor beta1, matrix-metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor in patients with pseudoexfoliation glaucoma/syndrome. *Vojnosanitetski pregled*. 2012;69(3):231-6.
32. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med*. 2008;29(5):290-308.
33. Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. *Mol Aspects Med*. 2008;29(5):258-89.
34. Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):55-71.