

УДК 616.7-007-092-018

ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ВАРИАНТАХ НЕОВАСКУЛЯРНОЙ МЕМБРАНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВЛАЖНОЙ ФОРМОЙ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

М.М. Бикбов, Н.Е. Шевчук, Р.Р. Файзрахманов, А.Л. Ярмухаметова, Т.Р. Гильманшин,
ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа

Гильманшин Тимур Риксович – e-mail: vitreoretinal@yandex.ru

Целью исследования явилось определение уровня цитокинов (интерлейкинов – 1β , 6, 18, фактора роста эндотелия сосудов – VEGF и пигментного фактора эпителиального происхождения – PEGF) во влаге передней камеры глаза у пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации. В зависимости от морфологических изменений неоваскулярной мембраны пациенты были разделены на группы: 1-я – пациенты с классической неоваскулярной мембраной; 2-я – пациенты со смешанной неоваскулярной мембраной; 3-я – пациенты с активной фиброваскулярной мембраной. Изменение уровня цитокинов (IL- 1β , IL-6, L-18, VEGF) во влаге передней камеры свидетельствует о разной степени активности патологического процесса при различных вариантах расположения неоваскулярной мембраны и развития ее фиброзирования.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, хориоидальная неоваскулярная мембрана, цитокины.

The purpose of the investigation was to determine the level of cytokines (interleukin – 1β , 6, 18, vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor) in aqueous of anterior chamber in patients with the wet form of age-related macular degeneration. Depending on the morphological changes of neovascular membrane patients were divided into three groups: 1st – patients with classic neovascular membrane; 2nd – patients with mixed neovascular membrane, third – patients with active fibrovascular membrane. The changes of interleukin – 1β , 6, 18, VEGF in different morphological variants of neovascularization can reveal the activity of pathological process.

Key words: age-related macular degeneration, choroidal neovascularization, cytokines.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) представляет собой хронический дистрофический процесс, поражающий центральную область сетчатки [1]. Недавние исследования выявили, что иммунные реакции и локальное воспаление играют ключевую роль в развитии влажной формы ВМД, хотя существенной является и роль гипоксии [2, 3].

Основная роль в развитии неоваскулярной мембраны принадлежит фактору роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF) [4]. В связи с этим в лечении влажной формы ВМД широкое распространение получили анти-VEGF препараты [5]. Однако, как было установлено, противовоспалительные препараты, в частности триамцинолон, также способствуют подавлению роста хориоидальной неоваскулярной мембраны (ХНВ), что свидетельствует о более широком участии цитокинов в формировании ХНВ [6, 7].

Цель исследования: определить локальные уровни цитокинов во влаге передней камеры глаза и их динамику в зависимости от морфологических особенностей неоваскулярной мембраны у пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации.

Материалы и методы

Для определения содержания цитокинов при влажной форме возрастной макулярной дегенерации были обследованы 22 пациента. В целях дифференциальной диагностики локализации ХНВ всем пациентам проводились

оптическая когерентная томография макулы (ОКТ) (Nidek RetinaScan - 3000) и флуоресцентная ангиография сосудов сетчатки (ФАГ) (FF 450 plus, Carl Zeiss). В зависимости от морфологических особенностей неоваскулярной мембраны пациенты были разделены на 3 группы:

1-я – 8 человек (8 глаз) – пациенты с классической неоваскулярной мембраной;

2-я – 7 человек (7 глаз) - пациенты со смешанной неоваскулярной мембраной;

3-я – 7 человек (7 глаз) - пациенты с активной фиброваскулярной мембраной.

У пациентов первой группы оптически неоднородное образование – неоваскулярная мембрана – располагалась над слоем пигментного эпителия, вокруг данного образования в нейроэпителии визуализировались гипорефлективные полости – кистозный отек сетчатки и/или гипорефлективное пространство под нейроэпителием – его экссудативная отслойка. На ФАГ выявлялось ранее прокрашивание ХНВ, прогрессивное увеличение и распространение гиперфлюоресценции за пределы первоначальных границ. У пациентов второй группы образование неоднородной экзогенности частично располагалось под и над пигментным эпителием, нейроэпителий вокруг данного образования был также кистозно-отечен и/или определялась его отслойка. На ФАГ выявлялась ранняя гиперфлюоресценция с быстрым распространением за пределы первоначальной границы, в позднюю фазу присоединялась

неравномерная гиперфлюоресценция с незначительной диффузией красителя. У пациентов третьей группы под нейроэпителием располагался гиперрефлективный очаг – фиброваскулярная мембрана, в области патологического очага пигментный эпителий не визуализировался. В слоях сетчатки определялся кистозный отек, свидетельствующий об активности фиброваскулярной мембраны. На ФАГ определялась ранняя гиперфлюоресценция с экстрафазальным выходом красителя и распространением его в ходе исследования, что характерно для активной классической неоваскулярной мембраны. Таким образом, дифференциальная диагностика активной фиброваскулярной мембраны от классической неоваскулярной основывалась на данных ОКТ макулы и заключалась в наличии гиперрефлективного очага под нейроэпителием и в отсутствии пигментного эпителия в данной области.

Забор влаги передней камеры производился во время интравитреальных инъекций инсулиновым шприцем 30 G через прокол роговицы в паралимбальной области. Определение содержания цитокинов во влаге передней камеры больших проводили твердофазным «сэндвич»-вариантом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) для интерлейкинов (IL)-1 β , 6, 18, VEGF и eBioscience (США) для пигментного фактора эпителиального происхождения (Pigment Epithelium-Derived Factor – PEDF).

Учет результатов проводили с использованием автоматического фотометра «Multiscan» при длине волны 450 нм. Результаты выражали в пг/мл. Нормальный уровень исследуемых цитокинов во влаге передней камеры составляет для интерлейкина-1 β – 1,94 пг/мл; для интерлейкина-6 – 4,5 пг/мл; для интерлейкина-18 – 364 пг/мл; VEGF – 60 пг/мл, PEDF – 3,08 пг/мл [8].

Статистическая обработка результатов осуществлялась при помощи программ Microsoft Excel 97, Statistica 6.0. Использовался критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке гипотез $p < 0,05$.

Результаты исследования

При анализе иммунологического профиля влаги передней камеры установлена зависимость изменений цитокинового профиля от типа неоваскуляризации. При условии перехода неоваскуляризации из одного типа в другой, а также при изменении положения относительно интерфейса пигментного эпителия данный момент является важным для проведения дифференциальной диагностики и прогнозирования морфологических изменений ХНВ.

Уровень IL-1 β во влаге передней камеры при классической неоваскулярной мембране (1-я группа) составил в среднем $1,422 \pm 0,435$ пг/мл (рис. 1).

При появлении зоны ликеджа под слоем пигментного слоя и формировании смешанной ХНВ (2-я группа) концентрация IL-1 β во влаге передней камеры увеличивалась, составив в среднем $2,667 \pm 0,789$ пг/мл ($p_{1-2} < 0,05$). Подобное увеличение уровня цитокинов объясняется активацией иммунного ответа, а также повышением уровня воспалительной реакции на местном уровне. При дальнейшем течении патологического процесса на морфологическом уровне происходит развитие фиброзной ткани в макулярной области с появлением атрофических участков и угасанием воспалительной реакции, что проявляется

снижением уровня IL-1 β у пациентов 3-й группы до $1,327 \pm 0,706$ пг/мл.

Подобные изменения выявлены и при исследовании концентрации IL-6. В 1-й группе уровень данного цитокина составил в среднем $2,346 \pm 0,756$ пг/мл. При просачивании влаги под ПЭС (2-я группа) концентрация интерлейкина была значительно выше, составляя в среднем $4,674 \pm 1,87$ пг/мл ($p_{1-2} < 0,05$). Исход заболевания сопровождался формированием рубцовой ткани (3-я группа), при этом концентрация IL-6 имела значения в среднем $1,79 \pm 0,872$ пг/мл. Учитывая тот факт, что IL-6 является одним из основных провоспалительных цитокинов, концентрация которого отражает уровень воспалительной активности, можно говорить о повышении воспалительной реакции при формировании смешанной неоваскулярной мембраны и снижении воспалительной активности при переходе ХНВ в стадию фиброзирования. Дополнительным подтверждением подобной тенденции является синергизм функциональной активности цитокиновой пары – IL-1 β и IL-6.

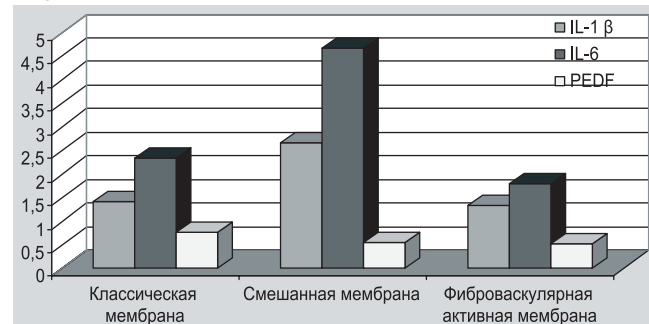


РИС. 1.
Уровень IL-1 β , IL-6, PEDF во влаге передней камеры пациентов с различными типами неоваскуляризации.

Концентрация IL-18 во влаге передней камеры при формировании классической ХНВ (1-я группа) составила в среднем $373,313 \pm 93,452$ пг/мл (рис. 2). При дальнейшей динамике морфологических изменений ХНВ уровень данного цитокина оставался неизменным. Во 2-й и 3-й группах его концентрация составила $320,874 \pm 47,251$ пг/мл и $337,483 \pm 45,233$ пг/мл соответственно. Несмотря на то, что IL-18 относится к одному семейству с IL-1 β , динамика их концентрации изменялась разнонаправленно, что демонстрирует отсутствие синергетической активности данных цитокинов.

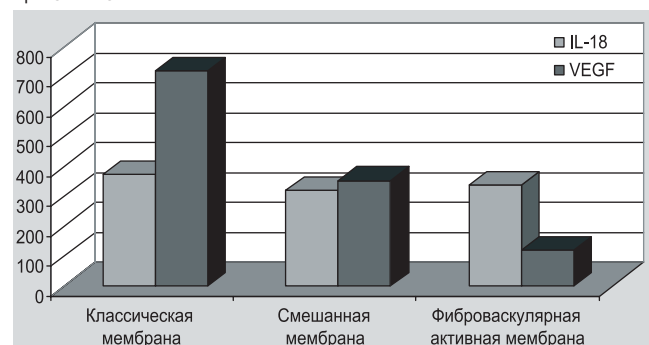


РИС. 2.
Уровень IL-18, VEGF во влаге передней камеры пациентов с различными типами неоваскуляризации.

ТАБЛИЦА.

Содержание цитокинов во влаге передней камеры глаза при различных морфологических вариантах неоваскулярной мембраны (M±SD)

Тип ХНВ	Уровни цитокинов, пг/мл		
	IL-1β	IL-6	VEGF
Классическая	1,422±0,435	2,346±0,756	722,141±48,479
Смешанная	2,667±0,789*	4,674±1,87*	353,37±20,819*
Активная фиброваскулярная	1,327±0,706	1,79±0,872	120,216±24,074*#

Примечание: * - $p < 0,05$ к 1-й группе (классическая неоваскулярная мембрана), # - $p_{1-3} < 0,05$ ко 2-й группе (смешанная неоваскулярная мембрана).

Основным патогенетическим звеном развития неоваскуляризации при ВМД является повышение активности VEGF и снижение активности PEDF ростовых факторов, действие которых является антагонистически направленным. При формировании классической ХНВ (1-я группа) концентрация VEGF во влаге передней камеры составила в среднем 722,141±48,479 пг/мл. Подобные высокие значения демонстрируют активность процесса, протекающего в центральном отделе сетчатки. Сложные каскадные реакции на основе хемотаксиса и линейного сцепления VEGF с аффинными рецепторами обеспечивают запуск развития неоваскуляризации и формирования порочного круга патогенеза, результат которого – переход ХНВ на новый уровень из хориокапиллярного слоя в ретинальный интерфейс. При формировании смешанной ХНВ концентрация VEGF во влаге передней камеры была меньше, составляя в среднем 353,37±20,819 пг/мл ($p_{1-2} < 0,05$). Подобное снижение концентрации может быть обусловлено двумя основными моментами: снижением активности процессов, протекающих в макулярной зоне; экранированием процесса за счет появления скрытого компонента воспалительной активности и появлении роста ХНВ под интерфейс ПЭС, где концентрация VEGF значительно повышается.

Фиброваскулярный компонент мембраны развивался на фоне низкого значения концентрации VEGF в передней камере глаза (3-я группа) – в среднем 120,216±24,074 пг/мл ($p_{1-2}, p_{1-3} < 0,05$), что обусловлено исходом развития ХНВ с образованием рубцовой ткани. При появлении процессов фиброобразования неоваскуляризация снижается.

При классической неоваскулярной мембране (1-я группа) локальный уровень PEDF составлял в среднем 0,756±0,313 пг/мл, при развитии смешанного варианта

(2-я группа) – 0,549±0,114 пг/мл, при развитии фиброобразования (3-я группа) – 0,531±0,082 пг/мл. Статистическая достоверность динамики этого фактора отсутствовала. Несмотря на антагонистическое действие PEDF и VEGF при влажной форме ВМД, корреляционной взаимосвязи уровня данных факторов во влаге передней камеры не выявлено.

Таким образом, в качестве основных иммунологических показателей дифференциальной диагностики развития ХНВ могут быть следующие цитокины: IL-1β, IL-6, VEGF (таблица).

Выводы

Изменение уровня цитокинов (IL-1β, IL-6, IL-18, VEGF) во влаге передней камере свидетельствует о разной степени активности патологического процесса при различных вариантах расположения неоваскулярной мембраны и развития ее фиброобразования.



ЛИТЕРАТУРА

1. Лысенко В.С. Макулярная дегенерация, связанная с возрастом. Наследственные и врожденные заболевания сетчатки и зрительного нерва / под ред. А.М. Шамшиновой. М.: Медицина, 2001. С. 229–256.
2. Lysenko V.S. Makuljarnaja degeneracija, svjazannaja s vozrastom. Nasledstvennye i vrozhdennye zabojevanija setchatki i zritel'nogo nerva / pod red. A.M. Shamshinovej. M.: Medicina, 2001. S. 229–256.
3. Anderson D.H., et al. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. Am. J. Ophthalmol. 2002. № 134. P. 411–431.
4. Das A., McGuire P.G. Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. Prog. Retin. Eye Res. 2003. № 22. P. 721–748.
5. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2001. № 280. P. 1358–1366.
6. Байбородов Я.В., Быков И.Ю. Первый опыт интравитреального введения лувентиса (ранибизумаба) при влажной форме возрастной макулодистрофии. Вестн. офтальмологии. 2009. № 5. С. 31–33.
7. Bajborodov Ja.V., Bykov I.Ju. Pervyj opyt intravitreal'nogo vvedenija lucentisa (ranibizumaba) pri vlazhnoj forme vozrastnoj makulodistrofii. Vestn. oftal'mologii. 2009. № 5. S. 31–33.
8. Beer P.M., Bakri S.J., Singh R.J. Intraocular concentration and pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after a single intravitreal injection. Ophthalmology. 2003. № 110. P. 681–686.
9. Гильманшин Т.Р. Интравитреальное введение кеналога в витреоретинальной хирургии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2008. 22 с.
10. Gil'manshin T.R. Intravitreal'noe vvedenie kenaloga v vitreoretinal'noj hirurgii : avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moskva, 2008. 22 s.
11. Young Joo Shin, Woo Ho Nam, Soo Eun Park, et al. Aqueous humor concentrations of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor in high myopic patients. Mol Vis. 2012. № 18. P. 2265–2270.