

АКТИВНОСТЬ МЕСТНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ¹, Егор Викторович ВАРВАРИНСКИЙ¹,
Ольга Михайловна ГОРБЕНКО², Аля Петровна ШВАЮК²,
Дмитрий Валерьевич ЧЕРНЫХ¹, Александр Николаевич ТРУНОВ^{1,2}

¹ Новосибирский филиал ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Минздрава России
630071, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Проведено определение концентраций фактора роста эндотелия сосудов, интерлейкинов 4, 6, 17А в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией. Установлено, что в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии происходит активация местного иммуновоспалительного процесса и сосудистой пролиферации, о чем свидетельствует достоверное повышение в стекловидном теле концентраций ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-17А и фактора роста эндотелия сосудов. Выявленные корреляционные взаимосвязи между изучаемыми показателями свидетельствуют о сопряженности этих процессов.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, цитокины, фактор роста эндотелия сосудов.

В настоящее время в мире насчитывается 200 миллионов человек, страдающих сахарным диабетом, и их число практически удваивается каждые 10–15 лет. Не вызывает сомнения, что офтальмологические осложнения, возникающие при развитии сахарного диабета, являются важнейшей медико-социальной проблемой, что связано с их значимостью в инвалидизации пациентов, высоким удельным весом в структуре нарушений зрения и необратимой слепоты – тяжелыми социальными последствиями как для отдельного человека, так и для общества в целом [1, 2, 6].

Несмотря на все успехи современной медицины, совершенствование методов контроля содержания глюкозы в крови, существующих методов профилактики и лечения диабетических поражений органа зрения, одним из самых тяжелых специфических поражений глаза остается диабетическая ретинопатия. Известно, что ее распространенность среди больных сахарным диабетом во многом зависит от длительности течения патологического процесса, полноты проведения ком-

плексного лечения и может достигать 80–90 %. Прогрессирование диабетической ретинопатии может осложняться рецидивирующими внутриглазными кровоизлияниями, фиброзом сетчатки и стекловидного тела, тракционной отслойкой сетчатки, атрофией зрительного нерва, что приводит к развитию необратимой слепоты [1, 8, 9, 14].

В настоящее время сахарный диабет рассматривается как многофакторный процесс. Его патогенетической основой являются системные и локальные сосудистые, а также метаболические нарушения, которые приводят и к возникновению поражений органа зрения.

Показано, что у пациентов с диабетической ретинопатией выявляются нарушения, свидетельствующие о значимости в ее патогенезе активности воспалительного процесса, нарушений функционального состояния иммунной системы, включая дисбаланс индукторов межклеточных взаимоотношений – цитокинов, матричных металлопротеиназ, факторов роста и др. [4, 5, 10, 12, 13]. В последние годы большое значение придается роли факторов роста сосудистого эндо-

Черных В.В. – д.м.н., проф., директор

Варваринский Е.В. – врач-офтальмолог

Горбенко О.М. – к.б.н., старший научный сотрудник

Шваюк А.П. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Черных Д.В. – врач-офтальмолог

Трунов А.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, руководитель лаборатории иммунологии, e-mail: trunov1963@yandex.ru

теля в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии [3, 7, 11]. Однако, несмотря на активное изучение различных механизмов возникновения и развития диабетической ретинопатии, многие аспекты ее патогенеза требуют дальнейшего изучения, а данные, имеющиеся в настоящее время, о роли дисбаланса, про-, противовоспалительных и регуляторных цитокинов во взаимосвязи с активацией синтеза факторов, активирующих пролиферацию, остаются дискуссионными и требуют дальнейшего изучения [8].

Все вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования – изучить содержание фактора роста эндотелия сосудов, интерлейкинов ИЛ-17А, ИЛ-4, ИЛ-6 в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 38 пациентов, прошедших хирургическое лечение по поводу тракционной отслойки сетчатки на базе Новосибирского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России в период с 2011 по 2012 г. У всех пациентов было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях, исследования выполняли с согласия локального этического комитета, согласно нормам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Возраст пациентов составлял от 25 до 78 лет (в среднем $52,6 \pm 4,5$ года). Количество женщин в обследованной группе составило 18 человек, мужчин – 16. В основную группу вошли 22 пациента (14 женщин и 8 мужчин) с тракционной отслойкой сетчатки на фоне пролиферативной диабетической ретинопатии (средний возраст $50,5 \pm 3,2$ года), в группу сравнения – 16 пациентов (6 женщин и 10 мужчин) с тракционной отслойкой сетчатки, не болевших сахарным диабетом и, соответственно, не имевших признаков диабетической ретинопатии (средний возраст $55,5 \pm 2,6$ года). Указанное позволило, при сходном патологическом процессе, связанном с отслойкой сетчатки, определить изменения концентраций изучаемых цитокинов в стекловидном теле, связанные с влиянием сахарного диабета (сравнить полученные величины с референсными значениями не представляется возможным в силу их отсутствия по этическим и медицинским причинам, поскольку для этого потребовалось бы забрать стекловидное тело у здорового человека).

Пациенты обеих подгрупп во время предоперационной подготовки и в послеоперацион-

ный период получали стандартную схему терапии, принятую в Новосибирском филиале ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России: Наклоф 0,1 % раствор (глазные капли), Дексаметазон 0,1 % раствор (глазные капли) – инстилляцией в конъюнктивальный мешок по одной капле 3 раза в сутки в течение 10 дней, Тобрекс 0,3 % раствор (глазные капли) – субконъюнктивально по одной капле 2 раза в сутки в течение 14 дней, Тропикамид 1 % раствор (глазные капли) – инстилляцией в конъюнктивальный мешок по одной капле 3 раза в сутки в течение 7 дней.

Оперативное лечение отслойки сетчатки пациентам обеих групп проводилось по стандартной методике задней трехпортовой витрэктомии 25G, 23G. В качестве исследуемого материала использовалось стекловидное тело, забранное на начальных этапах витрэктомии. Для исключения попадания бессолевого раствора забор материала осуществлялся на фоне воздушной тампонады. Далее проводилась мобилизация сетчатки, ее фиксация перфторорганическим соединением, эндолазеркоагуляция. Во всех случаях витрэктомия была завершена тампонадой силиконовым маслом.

Полученный биологический материал помещался в пробирки и центрифугировался в течение 10 мин при 3000 оборотах в минуту на центрифуге ОПН-3. Образовавшийся надосадочный слой помещался в пластиковые пробирки, замораживался и в дальнейшем использовался для лабораторной диагностики.

В качестве методов лабораторной диагностики было выбрано определение содержания следующих сигнальных белков.

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), биологически активная субстанция, способная, связываясь и активируя мембранные рецепторы, запускать сигнальный каскад, стимулирующий рост и пролиферацию эндотелиальных клеток сосуда. После образования новых сосудов VEGF выступает фактором выживаемости через подавление апоптоза эндотелиоцитов. Определение содержания VEGF в стекловидном теле выполнялось с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «ВекторБест» (Новосибирск) по инструкции производителя.

Интерлейкин-17А, являющийся провоспалительным цитокином, секретлируемым активированными Т-клетками, и стимулирующий синтез провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β , молекул межклеточной адгезии и др.

ИЛ-4 – цитокин, обладающий противовоспалительными свойствами, является активатором Т-хелперного ответа 2-го типа, что определяет

значимость его в развитии иммуновоспалительных и аутоиммунных процессах.

ИЛ-6 – провоспалительный цитокин, являющийся значимым фактором в процессах хронизации воспалительных процессов, в том числе аутоиммунной этиологии.

Определение содержания ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-17А в стекловидном теле выполнялось на коммерческих тест-системах производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) по инструкции производителя.

Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм.

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка среднего. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем вероятности 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Концентрация фактора роста эндотелия сосудов в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией была более чем в 23 раза выше, чем у пациентов с тракционной отслойкой сетчатки без признаков пролиферативной диабетической ретинопатии ($p < 0,001$).

Концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-17А в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией была в 2,8 раза больше значений показателя у пациентов с тракционной отслойкой сетчатки без признаков пролиферативной диабетической ретинопатии ($p < 0,001$).

Таблица

Содержание цитокинов (пг/мл) в стекловидном теле пациентов обследованных групп ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения	Основная группа
Содержание VEGF	$65,2 \pm 11,2$	$1491 \pm 183,1^*$
Содержание ИЛ-4	$8,1 \pm 0,5$	$32,5 \pm 9,4^*$
Содержание ИЛ-6	$32,8 \pm 8,7$	$64,2 \pm 10,4^*$
Содержание ИЛ-17А	$64,3 \pm 4,8$	$184,2 \pm 18,7^*$

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы сравнения достоверно при $p < 0,05$.

Содержание ИЛ-4 в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией в 4 раза превышало величину соответствующего показателя у пациентов с тракционной отслойкой сетчатки без признаков пролиферативной диабетической ретинопатии ($p < 0,001$).

Концентрация ИЛ-6 в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией была в 1,9 раза больше, чем у пациентов с тракционной отслойкой сетчатки без признаков пролиферативной диабетической ретинопатии ($p < 0,001$).

При исследовании стекловидного тела пациентов основной группы были выявлены прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями VEGF и ИЛ-17А ($r = 0,5$; $p < 0,05$) и обратная зависимость между содержанием ИЛ-17А и ИЛ-4 ($r = -0,43$; $p < 0,05$). Обнаруженные коррелятивные взаимосвязи свидетельствуют о сопряженности активности пролиферативного и иммуновоспалительного процессов в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило показать, что в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии значимую роль играет высокая активность местного иммуновоспалительного процесса, о чем свидетельствует достоверно более высокое, чем у лиц группы сравнения, содержание цитокинов ИЛ-17А, ИЛ-6, ИЛ-4 в стекловидном теле. Указанные процессы приводят к активации сосудистой пролиферации и проявляются более чем 20-кратным повышением содержания фактора роста эндотелия сосудов в стекловидном теле. Выявленные корреляционные взаимосвязи свидетельствуют о сопряженности развития иммуновоспалительного и пролиферативного процессов.

Работа выполнялась с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глазные проявления диабета / Под ред. Л.И. Балашевича. СПб., 2004. 382 с.
2. Либман Е.С., Шахова Е.В. Слепота и инвалидность вследствие патологии органа зрения в России // Вестн. офтальмологии. 2006. 1. 35–37.
3. Слепова О.С., Нероев В.В., Илюхин П.А., Сарыгина О.И. Иммунологический контроль при хирургическом лечении больных с пролиферативной диабетической ретинопатией с предварительным

интравитреальным введением Луцентиса // Рос. офтальмол. журн. 2012. (1). 69–74.

4. Черных В.В., Лысинов А.Г., Обухова О.О. и др. Особенности местного иммуновоспалительного процесса при непролиферативной диабетической ретинопатии // Вестн. НГУ. 2011. 9. (1). 164–168.

5. Ходжаев Н.С., Черных В.В., Роменская И.В. и др. Влияние лазеркоагуляции сетчатки на клинико-лабораторные показатели у пациентов диабетическим макулярным отеком // Вестн. НГУ. 2011. 9. (4). 48–53.

6. Bhavsar A.R. Diabetic retinopathy: the latest in current management // *Retina*. 2006. 26. (6). 71–79.

7. Citirik M., Kabatas E.U., Batman C. et al. Vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in proliferative diabetic retinopathy versus proliferative vitreoretinopathy // *Ophthalmic Res.* 2012. 47. (1). 7–12.

8. Lim A., Stewart J., Chui T.Y. et al. Prevalence and risk factors of diabetic retinopathy in a multi-racial underserved population // *Ophthalmic Epidemiol.* 2008. 6. 402–409.

9. Kollias A.N., Ulbig M.W. Diabetic retinopathy: Early diagnosis and effective treatment // *Dtsch. Arztebl. Int.* 2010. 5. 75–83.

10. Kowluru R.A., Zhong Q., Kanwar M. Metabolic memory and diabetic retinopathy: role of inflammatory mediators in retinal pericytes // *Exp. Eye Res.* 2010. 5. 617–623.

11. Pennock S., Kazlauskas A. Vascular endothelial growth factor A competitively inhibits platelet-derived growth factor (PDGF)-dependent activation of PDGF receptor and subsequent signaling events and cellular responses // *Mol. Cell Biol.* 2012. 32. (10). 1955–1966.

12. Rasier R., Gormus U., Artunay O. et al. Vitreous levels of VEGF, IL-8, and TNF-alpha in retinal detachment // *Curr. Eye Res.* 2010. 35. (6). 505–509.

13. Symeonidis C., Papakonstantinou E., Androudi S. et al. Interleukin-6 and the matrix metalloproteinase response in the vitreous during proliferative vitreoretinopathy // *Cytokine.* 2011. 54. (2). 212–217.

14. Sadaka A., Giuliari G.P. Proliferative vitreoretinopathy: current and emerging treatments // *Clin. Ophthalmol.* 2012. 6. 1325–1333.

ACTIVITY OF THE LOCAL INFLAMMATORY AND PROLIFERATIVE PROCESSES IN THE PATHOGENESIS OF DIABETIC RETINOPATHY

Valery Vyacheslavovich CHERNYKH¹, Yegor Victorovich VARVARINSKY¹,
Olga Mikhailovna GORBENKO², Alja Petrovna SHVAYUK²,
Dmitry Valerievich CHERNYKH¹, Aleksandr Nikolaevich TRUNOV^{1,2}

¹ Novosibirsk Affiliation of the Academician S.N. Fyodorov Federal State Budgetary Institution Intersectoral Research and Technology Complex «Eye microsurgery» of Minzdrav of Russia 630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10

² Research Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS 630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

The determination of the concentrations of vascular endothelial growth factor, interleukin 4, 6 and 17A in the vitreous body of patients with proliferative diabetic retinopathy has been carried out. It has been found that an activity of local immuno-inflammatory process (increased concentrations of IL-4, IL-6, IL-17A) and vascular proliferation (increased concentrations of vascular endothelial growth factor) play significant role in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. Revealed correlation interconnections between test characteristics testify to these processes associativity.

Key words: diabetic retinopathy, cytokines, vascular endothelial growth factor.

Chernykh V.V. – doctor of medical sciences, professor, director

Varvaranskiy E.V. – ophthalmologist, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Gorbenko O.M. – candidate of biological sciences, senior researcher

Shvayuk A.P. – candidate of biological sciences, senior researcher

Chernykh D.V. – ophthalmologist, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Trunov A.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director; head of the laboratory of immunology, e-mail: trunov1963@yandex.ru