

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ И ВНУТРИГЛАЗНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ С ГЕМОФТАЛЬМОМ ПОСЛЕ ВИТРЕКТОМИИ

Алексей Алексеевич Путиенко^{1*}, Дмитрий Николаевич Погорелый^{1,2}

¹Институт глазных болезней и тканевой терапии, г. Одесса,

²Клиника офтальмологии военно-медицинского клинического центра Южного региона, г. Одесса

Реферат

Цель. Изучение содержания фактора роста эндотелия сосудов, фактора некроза опухоли α , интерлейкина-1 β и интерлейкина-1РА в крови и витреальной полости у больных пролиферативной диабетической ретинопатией с гемофтальмом после витректомии.

Методы. Обследованы 82 больных пролиферативной диабетической ретинопатией (82 глаза), у которых в среднем в течение 2 мес (от 55 до 78 дней) после витректомии сохранялся гемофтальм.

Результаты. У больных пролиферативной диабетической ретинопатией с гемофтальмом после витректомии содержание фактора роста эндотелия сосудов в крови в 92,7% случаев было в норме, фактора некроза опухоли α во всех случаях соответствовало норме, интерлейкина-1 β в 93,8% было нормальным, интерлейкина-1РА в 74,4% случаев было ниже нормы. В витреальном содержимом концентрация фактора роста эндотелия сосудов была выше нормы в 84% случаев, фактора некроза опухоли α в 9,9% превышала норму, интерлейкина-1 β во всех случаях была нормальной, а интерлейкина-1РА в 84,1% случаев была ниже нормы.

Вывод. Полученные данные свидетельствуют о дальнейшем прогрессировании пролиферации в полости глаза, несмотря на выполненную витректомию, что является ведущим в патогенезе рецидивирования кровоизлияний.

Ключевые слова: цитокины, пролиферативная диабетическая ретинопатия, гемофтальм, витректомия, внутриглазная жидкость.

BLOOD AND VITREOUS HUMOR CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY AND POST-VITRECTOMY HEMOPHTHALMIA A.A. Putienko¹, D.N. Pogorely^{1,2}. ¹Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy, Odessa, Ukraine, ²Ophthalmology Clinics of Military Medical Clinical Centre, Odessa, Ukraine.

Aim. To study vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA) blood and vitreous humor levels in patients with proliferative diabetic retinopathy (PDRP) and post-vitrectomy hemophthalmia. **Methods.** 82 patients (82 eyes) with PDRP and post-vitrectomy hemophthalmia present 2 months (from 55 to 78 days) after performed vitrectomy were examined. **Results.** In patients with proliferative diabetic retinopathy (PDRP) and post-vitrectomy hemophthalmia VEGF blood level remained normal in 92.7% of cases, TNF- α blood level was normal at all times, blood level of IL-1 β was within normal ranges in 93.8% of cases, and IL-1RA blood level was decreased in 74.4% of cases. Vitreous humor level was above normal ranges for VEGF — in 84% of cases, for TNF- α — in 9.9% of cases, IL-1 β vitreous humor level was within reference ranges at all times, and IL-1RA vitreous humor level was decreased in 84.1% of cases. **Conclusion.** The gained data indicates further vascular proliferation in the eye cavity as a leading factor for hemorrhage relapses, despite the vitrectomy performed. **Keywords:** cytokines, proliferative diabetic retinopathy, hemophthalmia, vitrectomy, vitreous fluid.

Длительно не рассасывающийся или рецидивирующий гемофтальм после витректомии — одна из основных проблем современной витреоретинальной хирургии пролиферативной диабетической ретинопатии (ПДРП) [1–3]. Комплекс факторов, который связан с развитием этого осложнения, определён в нескольких исследованиях [1, 2]. Согласно этим работам, общесоматическая декомпенсация сахарного диабета, которая развивается на фоне длительного течения заболевания, — одна из основных причин рецидивирования кровоизлияния после операции. При этом локальные изменения, которые могут развиваться в полости стекловидного тела после витректомии и способствовать рецидивированию или медленному рассасыванию гемофтальма, изучены недостаточно.

Само по себе объёмное трансклиарное вмешательство сопровождается существенной травмой и может вызывать воспалительную реакцию со стороны глаза, привести к снижению проницаемости сосудов и рецидивированию кровоизлияния. В то же время, возможно продолжение пролиферативного процесса, несмотря на удаление витреального содержимого с факторами пролиферации из полости глаза и выполнение панретинальной лазерной коагуляции. Подтверждением этому служит неоваскуляризация в зоне склеротомий по данным ультразвуковой биомикроскопии. Таким образом, остаётся невыясненным вопрос о том, какие процессы преобладают в витреальной полости у пациентов с рецидивирующими гемофтальмами после витректомии.

Один из интегральных показателей патологических процессов в органах и тканях — содержание цитокинов, регуляторов

клеточных взаимодействий. Ранее исследование цитокинового профиля в крови и витреальной полости у больных с ПДРП и гемофтальмом после витрэктомии не проводили, что и стало основанием для выполнения данного исследования.

Целью исследования была оценка содержания фактора роста эндотелия сосудов (VEGF — от англ. vascular endothelium growth factor), фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и интерлейкина-1РА (ИЛ-1РА) в крови и витреальной полости у больных с ПДРП и гемофтальмом после витрэктомии.

Под наблюдением находились 82 больных с ПДРП (82 глаза), 38 (46,3%) мужчин и 44 (54,7%) женщины. Сахарный диабет 1-го типа был диагностирован у 36 (43,9%) пациентов, 2-го типа — у 46 (57,1%). Длительность сахарного диабета свыше 15 лет зарегистрирована у 69 (84,1%) пациентов. Длительность пролиферативного процесса более 3 лет — 58 (70,7%) глаз. Показанием к витрэктомии на 40 (48,8%) глазах был рецидивирующий гемофтальм, на 39 (47,6%) — тракционная отслойка сетчатки с захватом макулы, угрожающая макуле, на 3 (3,6%) глазах — тракционно-регатогенная отслойка сетчатки. Операцию выполняли по обычной методике 20G, эпиретинальные мембраны удаляли максимально. При необходимости для расправления сетчатки в полость глаза вводили стерильный воздух, выполняли панретинальную эндодиодную лазерную коагуляцию. Операцию завершили без тампонады витреальной полости на 9 (10,9%) глазах, тампонадой стерильным воздухом — в 15 (18,3%) случаях, 10% концентрацией перфторпропана — на 22 (26,8%) глазах, 20% концентрацией перфторпропана — в большинстве случаев (36 глаз, 43,9%). На всех глазах в послеоперационном периоде в среднем в течение 2 мес. (от 55 до 78 дней) сохранялся гемофтальм.

Для оценки степени помутнения витреального содержимого использовали балльную систему оценки [10]:

- 0 баллов — содержимое витреальной полости прозрачно;
- 1 балл — слабо выраженные помутнения витреальной полости, детали глазного дна видны за лёгким флёром;
- 2 балла — выраженные помутнения витреальной полости, детали глазного дна за сильным флёром (прослеживаются границы диска зрительного нерва и крупные сосуды);

– 3 балла — яркий рефлекс с глазного дна (детали не видны);

– 4 балла — тусклый рефлекс с глазного дна (детали не видны);

– 5 баллов — нет рефлекса с глазного дна.

Распределение глаз по степени помутнения было следующим: 11 глаз — 3 балла, 46 глаз — 4 балла, 25 глаз — 5 баллов.

Таким образом, в подавляющем большинстве случаев (71 глаз, 86,6%) зарегистрированы выраженные помутнения стекловидного тела без тенденции к рассасыванию.

Для проведения иммунологических исследований в день операции проводили забор крови из локтевой вены с помощью одноразовой вакуумной системы для забора крови с антикоагулянт. Сразу после взятия кровь центрифугировали при 3000 оборотов в минуту в течение 10 мин. Отобранную плазму хранили при температуре -20 °С до проведения иммунологических исследований. Для исследования также брали витреальное содержимое, которое было получено при выполнении хирургического вмешательства — заместительной газовой тампонады. Вмешательство выполняли по обычной методике: в положении больного сидя в 4 мм от лимба на 6 ч условного циферблата из витреальной полости аспирировали от 3,5 до 3,8 мл геморрагического содержимого с одновременным введением в полость глаза газовой смеси.

В полученных для исследования средах уровень VEGF, ФНО α , ИЛ-1 β и ИЛ-1РА определяли методом иммуноферментного анализа. Использовали тест системы ООО «Цитокины» (Россия). Для статистического сравнения использовали дисперсионный анализ с оценкой различий данных с помощью параметрического критерия Фишера. Корреляционную зависимость изучали, применяя непараметрической коэффициент корреляции Спирмена.

Абсолютное содержание исследуемых показателей в крови и внутриглазной жидкости представлено в табл. 1.

Как видно из представленных в таблице данных, у пациентов с ПДРП большой разброс значений исследуемых цитокинов как в крови, так и во внутриглазной жидкости. Полученные данные согласуются со всеми исследованиями, которые посвящены изучению уровня цитокинов у больных сахарным диабетом с ПДРП [4-9, 11-14]. С одной

Таблица 1

Содержание ряда цитокинов в крови и внутриглазной жидкости у больных с пролиферативной диабетической ретинопатией и гемофтальмом после витрэктомии; n=82, пг/мл

Исследуемый показатель		m±σ	Минимальное значение	Максимальное значение	Диапазон нормы
VEGF	кровь	107,4±154,8	0	855,1	10-700
	вн.ж.	1436,7±619,8	10,4	2003	10-700
ФНОα	кровь	4,4±0,4	3,7	5,9	0-6
	вн.ж.	8,6±16,2	4,9	126	0-6
ИЛ-1β	кровь	7,3±22,6	0,3	171,8	0-11
	вн.ж.	1,1±1,4	0,1	9,4	0-11
ИЛ-1РА	кровь	307,1±420,7	0	2218	350-700
	вн.ж.	222,9±362,5	0	2322	350-700

Примечание: VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; ФНОα – фактор некроза опухоли α; ИЛ – интерлейкин; вн.ж. – внутриглазная жидкость.

стороны, это связано с достаточно большим колебанием количества этих соединений в норме, с другой – с множеством факторов, которые влияют на концентрацию цитокинов в тканях у больных сахарным диабетом, что обусловлено также степенью его компенсации. Так, в работе N. Baharivand и соавт. [8] изложена большая вариабельность показателей ряда цитокинов в зависимости от количества гликозилированного гемоглобина, длительности сахарного диабета и пролиферативного процесса, особенно при наличии нефропатии. В связи с этим наиболее оптимальна оценка этих показателей по отношению к норме.

Мы установили, что содержание VEGF в крови у большинства больных (92,7%) было в пределах нормы. Уровень ФНОα во всех случаях также был в пределах нормы, содержание ИЛ-1β соответствовало нормальным показателям (93,8%). При этом было отмечено существенное снижение количества ИЛ-1РА в крови больных с ПДРП и гемофтальмом после витрэктомии (74,4% случаев). Полученные данные согласуются с исследованиями, в которых показано, что количество пролиферативных факторов, в частности VEGF, а также и содержание провоспалительных цитокинов в крови колеблется в пределах нормальных показателей [4, 5, 8, 11]. Низкий уровень ИЛ-1РА свидетельствует об отсутствии активного воспалительного процесса в организме, подтверждая нормальные показатели исследуемых провоспалительных цитокинов.

В витреальной полости было обнаружено значительное повышение концентрации VEGF, в 84% случаев этот показатель был выше нормы. Содержание ФНОα в полости стекловидного тела было незначительно

выше, чем в крови, и только в 8 (9,9%) случаях превышало нормальные показатели. Уровень ИЛ-1РА в полости стекловидного тела, так же как и в крови пациентов, был значительно ниже нормы (84,1% случаев). Необходимо также отметить отсутствие изменений в содержании ИЛ-1β в витреальной полости у пациентов с ПДРП и гемофтальмом после витрэктомии.

Таким образом, в витреальном содержимом у больных ПДРП с гемофтальмом после витрэктомии выявлено дальнейшее прогрессирование пролиферативного процесса с низким уровнем воспаления. Подтверждением этому служат высокий уровень VEGF (на 84% выше нормы) и нормальные показатели ФНОα и ИЛ-1β при низком уровне ИЛ-1РА (на 84,1% ниже нормы).

Данные литературы, посвящённые исследованию количества цитокинов в витреальном содержимом у больных с ПДРП, полученном при выполнении витрэктомии, свидетельствуют не только о высоком содержании VEGF, но также и о достоверном повышении в этой среде провоспалительных цитокинов, в частности ФНОα и ИЛ-1β [6-9, 11-13]. Как показали наши исследования, через 2 мес после витрэктомии уровень воспалительного процесса существенно снижается, а пролиферативный процесс активно продолжается, что и способствует рецидивированию кровоизлияния.

В дальнейшем была проведена сравнительная оценка концентрации исследуемых цитокинов в крови и витреальной жидкости у пациентов с ПДРП в зависимости от степени помутнения стекловидного тела (табл. 2).

Содержание исследуемых цитокинов как в крови, так и в витреальной жидкост-

Таблица 2

Цитокиновый профиль в крови и внутриглазной жидкости у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией и гемофтальмом после витрэктомии в зависимости от степени помутнения полости стекловидного тела; $m \pm \sigma$, пг/мл

Исследуемый показатель		Степень помутнения		Критерий Фишера	p
		3 балла, n=11	5 баллов, n=25		
VEGF	кровь	96,2±105,1	129,6±201,7	0,362	0,697
	вн.ж.	1632,6±503,6	1369,1±668,7	0,7	0,5
ФНО α	кровь	4,3±0,3	4,5±0,5	1,189	0,31
	вн.ж.	5,4±0,3	6,3±2,7	0,802	0,452
ИЛ-1 β	кровь	3,7±4,0	1,4±2,21	0,195	0,824
	вн.ж.	1,0±1,3	8,8±22,9	0,823	0,443
ИЛ-1РА	кровь	164,8±141,9	313,9±421,9	0,75	0,476
	вн.ж.	102,7±92,1	276,7±509,5	0,877	0,42

Примечание: VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; ФНО α – фактор некроза опухоли α ; ИЛ – интерлейкин; вн.ж. – внутриглазная жидкость.

ти у пациентов с менее выраженными помутнениями (3 балла) и с очень интенсивными помутнениями (5 баллов) значительно не различалось, что может быть связано с недостаточным количеством наблюдений. При этом необходимо отметить определённую тенденцию преобладания в полости стекловидного тела провоспалительных цитокинов (ФНО α и ИЛ-1 β) со снижением уровня антагониста ИЛ-1 β – ИЛ-1РА на глазах с более выраженными помутнениями (5 баллов). Клинически степень помутнения зависит от плотности витреального содержимого, что обусловлено количеством эритроцитарной массы и фибрина. При более интенсивном витреальном содержанием количество фибрина выше, что связано с повышенной сосудистой проницаемостью и косвенно свидетельствует о хроническом воспалении.

Интересным представляется исследование корреляционной зависимости содержания цитокинов в крови и витреальной жидкости у больных с гемофтальмом после витрэктомии. Мы установили отсутствие корреляционной зависимости между количеством VEGF в крови и витреальной жидкости. Также не обнаружена связь между содержанием ИЛ-1РА в изучаемых средах. При этом прямая сильная достоверная корреляционная связь обнаружена между уровнем провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ-1 β ($p < 0,001$), что свидетельствует о том, что воспалительные процессы, которые происходят в организме больных сахарным диабетом, отражаются на локальных процессах, которые развиваются в глазу у больных с ПДРП и гемофтальмом после витрэктомии.

При изучении корреляционной зависи-

мости между количеством VEGF в крови и витреальном содержимом, полученном при выполнении витрэктомии у больных с ПДРП, ряд исследователей отмечали существование сильной корреляционной связи: чем выше уровень этого соединения в крови, тем выше в стекловидном теле [5, 6]. При этом в подавляющем большинстве работ такой корреляции обнаружено не было [4, 7–9, 11–13]. По мнению R. Burgos и соавт., весь интравитреальный уровень VEGF продуцируется непосредственно в глазу и не связан с его содержанием в крови [4].

ВЫВОДЫ

1. Проведённые исследования позволили заключить, что у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией и гемофтальмом после витрэктомии на фоне нормальных показателей количества фактора роста эндотелия сосудов в крови происходит повышение его содержания в витреальной полости. При этом уровень провоспалительных цитокинов, в частности фактора некроза опухоли α и интерлейкина-1 β , как в крови, так и витреальной полости, находится в пределах нормы, а содержание интерлейкина-1РА достоверно снижено. Эти данные свидетельствуют о дальнейшем прогрессировании пролиферативного процесса в полости стекловидного тела, несмотря на выполненную витрэктомию, что становится ведущим фактором в патогенезе рецидивирования кровоизлияний после витрэктомии.

2. Применение терапии, блокирующей синтез фактора роста эндотелия сосудов, может быть эффективным как в лечении гемофтальма после витрэктомии у больных

с пролиферативной диабетической ретинопатией, так и в снижении частоты развития этого осложнения (как завершающий этап интравитреального вмешательства).

ЛИТЕРАТУРА

1. Носов С.В. Тактика лечения поздних поствитреэктомических гемофтальмов у больных сахарным диабетом // Офтальмохирургия. — 2011. — №3. — С. 53–56.
2. Погорельский Д.Н., Путиченко А.А. Анализ причин развития гемофтальмов после витреэктомии у больных пролиферативной диабетической ретинопатией // Офтальмол. ж. — 2011. — №6. — С. 8–12.
3. Bhavsar A.R. Diabetic retinopathy: the latest in current management // Retina. — 2006. — N 26. — P. 71–79.
4. Burgos R., Simo R., Audi L. et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy // Diabetologia. — 1997. — N 40. — P. 1107–1109.
5. Doganay S., Evereklioglu C., Er H. et al. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus // Eye. — 2002. — Vol. 16, N 2. — P. 163–170.
6. Koleva-Georgieva D.N., Sivkova N.P., Terzieva D. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy // Folia Med. (Plovdiv). — 2011. — Vol. 53, N 2. — P. 44–50.
7. Murugeswari P., Shukla D., Rajendran A. et al. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and cataract disease // Retina. — 2008. — Vol. 28, N 6. — P. 817–824.
8. Nader B., Nosratollah Z., Farid P. et al. Relationship between vitreous and serum vascular endothelial growth factor levels, control of diabetes and microalbuminuria in proliferative diabetic retinopathy // Clin. Ophthalmol. — 2012. — N 6. — P. 185–191.
9. Schoenberger S.D., Kim S.J., Sheng J. Increased prostaglandin E2 (PGE2) levels in proliferative diabetic retinopathy and correlation with VEGF and inflammatory cytokines // Inv. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2012. — Vol. 53. — P. 5906–5911.
10. Steel D.H., Habib M.S., Park S. Entry site neovascularization and vitreous cavity hemorrhage after diabetic vitrectomy the predictive value of inner sclerostomy site ultrasonography // Ophthalmology. — 2008. — N 115. — P. 525–532.
11. Sydorova M., Lee M.S. Vascular endothelial growth factor levels in vitreous and serum of patients with either proliferative diabetic retinopathy or proliferative vitreoretinopathy // Ophthalmic Res. — 2005. — N 37. — P. 188–190.
12. Watanabe D., Suzuma K., Suzuma I. et al. Vitreous levels of angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy // Am. J. Ophthalmol. — 2005. — N 139. — P. 476–481.
13. Zhou J.S., Wang X. Role of intravitreal inflammatory cytokines and angiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy // Xia. Curr Eye Res. — 2012. — Vol. 37, N 5. — P. 416–420.
14. Zhou H., Zhang H. A comparative study of vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. — 1997. — N 33. — P. 247–250.

УДК 578.828.6: 616.98-06-036.8-07 (470.40)

Т08

ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ ПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

Вильдан Хайруллаевич Фазылов¹, Эльвира Равиловна Манапова^{1*}, Майя Львовна Гольц¹,
Эмма Мнацакановна Люстикман², Айрат Талгатович Бешимов³

¹Казанский государственный медицинский университет,

²Республиканская клиническая инфекционная больница, г. Казань,

³Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями,
г. Казань

Реферат

Цель. На основании клинического анализа стационарных случаев ВИЧ-инфекции оценить структуру оппортунистических и сопутствующих заболеваний с учётом стадий развития инфекционного процесса.

Методы. Проанализированы случаи стационарного лечения 40 пациентов с диагнозом «ВИЧ-инфекция» в возрасте от 25 до 42 лет (34,26±1,22 года), 14 женщин и 26 мужчин, со сроком инфицирования 6,7±0,6 года.

Результаты. В стационар пациенты поступали в среднем на 17±3,24 день болезни, в том числе при патологии бронхолёгочной системы — на 23±3,6 день болезни, с реактивацией хронического гепатита и декомпенсацией цирроза печени — на 30±10,09 день болезни, с острыми инфекциями — на 7±1,16 день болезни. В анамнезе употребление психоактивных веществ подтверждено у 28 (70,0%) пациентов. Антиретровирусную терапию получали 13 (32,5%) больных, 3 (7,5%) самовольно её прервали, остальные никогда не получали такого лечения. По стадиям ВИЧ-инфекции (классификация Покровского В.И.) пациенты распределились следующим образом: III стадия — 4 (10,0%) человека, стадия IVA — 8 (20,0%), IVB — 11 (27,5%), IVB — 17 (42,5%) больных. В структуре диагнозов преобладали бронхолёгочные заболевания — 17 (42,5%), из них 8 (47,1%) — внебольничная пневмония (очаговая, полисегментарная, интерстициальная, лобарная), 9 (52,9%) — туберкулёз лёгких (инфильтративный, милиарный, туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов). В структуре сопутствующей патологии преобладали заболевания печени: хронический гепатит С, хронический гепатит С + В, цирроз печени — у 21 (52,5%) пациента.

Вывод. На ранних стадиях ВИЧ-инфекции преобладающими сопутствующими заболеваниями являются *herpes zoster* и заболевания печени, тогда как на поздних стадиях на передний план выходят оппортунистические