

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ МЕСТНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО, ИММУННОГО И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

В настоящее время обсуждается значимость активности воспалительного процесса, иммунного реагирования, дисбаланса цитокинов и других биологически активных веществ в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии, однако, многие аспекты ее патогенеза остаются недостаточно исследованными. Кроме того, вопросы взаимосвязи между активностью воспалительного процесса, сосудистой пролиферации и нарушениями иммунного реагирования в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии остаются дискуссионными и требуют углубленного изучения.

В результате проведенного исследования была установлена значимость местного воспалительного и пролиферативного процессов, а также активации иммунного реагирования в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии, что подтверждается наличием в стекловидном теле достоверно высоких концентраций интерлейкинов 4, 6, 8, 17A, фактора роста эндотелия сосудов, моноцитарного хемотаксического белка-1, трансформирующего фактора роста бета 2, фактора роста пигментного эпителия и sIgA. Статистический анализ позволил установить наличие достоверных коррелятивных взаимосвязей между маркерами, отражающими активность иммунновоспалительного и пролиферативного процессов (VEGF и TGF- β 2 ($r=0.46$, $p<0.05$); VEGF и ИЛ-17A ($r=0.45$, $p<0.05$); VEGF и ИЛ-8 ($r=0.45$, $p<0.05$); PEDF и ИЛ-17A ($r=0.48$, $p<0.05$); PEDF и ИЛ-8 ($r=0.58$, $p<0.05$); ИЛ-17A и ИЛ-8 ($r=0.59$, $p<0.05$); ИЛ-17A и ИЛ-4 ($r=0.62$, $p<0.05$); ИЛ-8 и ИЛ-4 ($r=0.71$, $p<0.01$) и др.).

Результаты исследования свидетельствуют о наличии взаимосвязи между развитием местного иммунновоспалительного и пролиферативного процессов в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: Проллиферативная диабетическая ретинопатия, цитокины, факторы роста.

Актуальность

Известно, что наиболее тяжелым специфическим поражением органа зрения при сахарном диабете является пролиферативная диабетическая ретинопатия (ПДР). Исследования последних лет показали, что значимую роль в патогенезе ПДР играет прогрессивное нарастание содержания фактора роста сосудистого эндотелия и дисбаланс биологически активных молекул, обладающих пролиферативной, ангиогенной и антиангиогенной активностью [1], [4], [6], [8], [9], [13], [14].

В научных публикациях обсуждается значимость в механизмах развития ПДР активности воспалительного процесса и иммунного реагирования, дисбаланса различных классов цитокинов, матричных металлопротеиназ и молекул клеточной и межклеточной адгезии и других биологически активных субстанций [2], [3], [5], [7], [10]–[12].

Однако, приходится констатировать, что многие аспекты патогенеза ПДР остаются недостаточно исследованными, а сведения, ка-

сающиеся взаимосвязи активности процессов ангиопролиферации с воспалением и нарушением иммунного реагирования остаются дискуссионными и требуют дальнейшего изучения. Все вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования.

Цель исследования:

Изучить взаимосвязь местного иммунновоспалительного и пролиферативного процессов в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатией.

Материалы и методы

Было обследовано 63 пациента (63 глаза) прошедших хирургическое лечение по поводу тракционной отслойки сетчатки. Основную группу составили 38 пациентов (38 глаз) с ПДР и тракционной отслойкой сетчатки. Средний возраст пациентов 50.5 ± 3.2 года (46–62 года). Количество женщин в группе – 22, мужчин – 16. Сахарный диабет 1 типа был у 8 пациентов. Сахарный диабет 2 типа – у 30 пациентов. Стаж

заболевания сахарным диабетом у всех пациентов был более 8 лет (8–16 лет). Содержание гликозилированного гемоглобина HbA1c составило 9.9 % (6.9 % – 12.2 %). Группу сравнения составили 25 пациентов (25 глаз) с тракционной отслойкой сетчатки, не болевших сахарным диабетом и, соответственно, не имевших признаков диабетической ретинопатии. Средний возраст пациентов – 53.5±2.6 лет. Количество женщин в группе – 12, мужчин – 13. Выбор групп позволил при сходном уровне повреждения, связанного с отслойкой сетчатки, связать изменения концентраций изучаемых показателей в основной группе с наличием у пациентов ПДР.

Диагноз ПДР выставлен на основании обследования, включающего: визометрию, определение границ поля зрения и наличия скотом, бинокулярной офтальмоскопии, щелевой лампы, двухмерного ультразвукового сканирования. Критерием включения в основную группу пациентов являлось наличие у них сахарного диабета и пролиферативной диабетической ретинопатии. Критерием включения в группу сравнения явилось отсутствие у пациентов сахарного диабета и ПДР. Критерием исключения для обеих групп являлось наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, ПОУГ, увеита различной этиологии, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации.

В качестве исследуемого материала использовалось стекловидное тело, забранное на начальных этапах витрэктомии. Полученный биологический материал помещался в пробирки и центрифугировался в течение 10 минут при 1500 rpm, образовавшийся надосадочный слой помещался в пластиковые пробирки, заморажи-

вался при -70 С и, в дальнейшем, использовался для лабораторной диагностики.

Определение фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1) и sIgA в стекловидном теле выполнялось на тест-системах для иммуноферментного анализа производства «Вектор-Бест», Россия. Определение интерлейкинов 4, 6, 8, 10, 17A в стекловидном теле выполнялось на тест-системах для иммуноферментного анализа производства «Цитокин», Россия. Определение Трансформирующего фактора роста бета 2 (TGF-β2) выполнялось методом иммуноферментного анализа на тест-системах DRG-diagnostics (Германия). Определение фактора роста пигментного эпителия (PEDF) в стекловидном теле выполнялось на тест-системах для иммуноферментного анализа производства CUSABIO, КНР. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» Россия при длине волны 450 нм.

Статистическая обработка полученных данных. Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде таблиц. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Статистика 10 производства StatSoft Inc. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя, m – ошибка средней. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ($p < 0.05$).

Таблица 1 Содержание изучаемых показателей в стекловидном теле пациентов обследованных групп ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения n=25	Основная группа n=38
VEGF, нг/мл	88.8±27.7	1520.1 ± 178.3*
TGF- 2 пг/мл	2921±49.3	4929±395.0
PEDF, пг/мл	190.4± 8.3	279.1±42.7*
ИЛ-17A, пг/мл	67.6 ± 4.6	311.2 ± 98.2*
ИЛ-6, пг/мл	32.8± 8.7	64,2 ± 14.6*
ИЛ-8, пг/мл	28.7±1.23	55.4±16.7*
ИЛ-10, пг/мл	4.47±0.24	4.43±0.69
MCP-1, пг/мл	447.1±35.8	990.6±108.6
ИЛ-4, пг/мл	8.1 ± 0.5	32.5 ± 9.4*
sIgA, мг/мл	0.96±0.05	1.43±0.13 *

* – отличие от величины соответствующего показателя группы сравнения достоверно при $p < 0.05$.

В результате проведенного исследования были получены результаты представленные в таблице 1.

Проведенное исследование показало, что в механизмах развития пролиферативной диабетической ретинопатии значимую роль играет активность местного иммуновоспалительного процесса, о чем свидетельствуют достоверно высокие, относительно величин изучаемых показателей в группе сравнения, уровни содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-17А, ИЛ-8, ИЛ-6, МСР-1, а также и индуктора гуморального звена иммунной системы ИЛ-4 и sI-gA в стекловидном теле. Указанные процессы происходят на фоне активации сосудистой пролиферации и проявляются более чем 17-кратным повышением содержания фактора роста эндотелия сосудов и трансформирующего фактора роста $\beta 2$. Повышение содержания фактора роста пигментного эпителия в стекловидном теле пациентов основной группы можно расценивать, как компенсаторное и направленное на подавление ангиопролиферации, однако, не эффективное.

Для оценки наличия взаимосвязей между изучаемыми патологическими процессами в механизмах развития ПДР, был проведен корреляционный анализ полученных данных, результаты которого представлены в таблице 2. Прямая достоверная коррелятивная взаимосвязь

между концентрациями VEGF и TGF- $\beta 2$ ($r=0.46$, $p<0.05$), свидетельствующая сопряженности синтеза этих факторов роста, механизмах развития ПДР и подтверждает предположение об участии TGF- $\beta 2$ в процессах неоангиогенеза у пациентов с изучаемым патологическим процессом.

Прямые достоверные коррелятивные взаимосвязи между концентрациями VEGF и провоспалительного цитокина ИЛ-17А ($r=0.45$, $p<0.05$) и VEGF и провоспалительного цитокина ИЛ-8 ($r=0.45$, $p<0.05$), свидетельствуют о взаимосвязи местного воспалительного процесса и неоангиогенеза в механизмах развития ПДР и возможной триггерной роли воспаления в активации сосудистой пролиферации.

Прямые достоверные коррелятивные взаимосвязи между концентрациями PEDF и провоспалительного цитокина ИЛ-17А ($r=0.48$, $p<0.05$) и между концентрациями PEDF и провоспалительного хемокина ИЛ-8 ($r=0.58$, $p<0.05$). Установленные взаимосвязи отражают развитие компенсаторных реакций в патогенезе ПДР, направленных на подавление активности местного воспалительного процесса и сосудистой пролиферации.

Прямые достоверные коррелятивные взаимосвязи между концентрациями провоспалительных цитокинов ИЛ-17А и ИЛ-8 ($r=0.59$, $p<0.05$) и между концентрациями моноцитар-

Таблица 2. Коррелятивные взаимосвязи между изучаемыми показателями в стекловидном теле пациентов с ПДР

Показатель 1	Показатель 2	Коэффициент корреляции (r)	Достоверность (p)
VEGF	ИЛ-17А	0.45	$p<0.05$
VEGF	ИЛ-8	0.48	$p<0.05$
VEGF	ИЛ-10	0.46	$p<0.05$
VEGF	ИЛ-4	0.51	$p<0.05$
VEGF	TGF- 2	0.46	$p<0.05$
PEDF	МСР-1	0.72	$p<0.01$
PEDF	ИЛ-17А	0.48	$p<0.05$
PEDF	ИЛ-8	0.58	$p<0.04$
PEDF	ИЛ-10	0.6	$p<0.04$
ИЛ-17А	ИЛ-8	0.59	$p<0.04$
ИЛ-17А	ИЛ-4	0.65	$p<0.02$
ИЛ-17А	ИЛ-10	0.56	$p<0.04$
ИЛ-8	МСР-1	0.45	$p<0.05$
ИЛ-8	ИЛ-4	0.71	$p<0.01$
ИЛ-8	ИЛ-10	0.51	$p<0.04$
ИЛ-10	ИЛ-4	0.52	$p<0.04$
TGF- 2	ИЛ-10	0.6	$p<0.02$

ного хемотаксического белка-1, и провоспалительного цитокина ИЛ-8, ($r=0.45$, $p<0.05$), что свидетельствует о сопряженности синтеза провоспалительных цитокинов в механизмах развития местного воспалительного процесса у пациентов с ПДР.

Прямые достоверные коррелятивные взаимосвязи между концентрациями провоспалительного цитокина ИЛ-17А и обладающего противовоспалительными свойствами индуктора гуморального звена иммунной системы ИЛ-4 ($r=0.62$, $p<0.05$) и между концентрациями провоспалительного цитокина ИЛ-17А и обладающего противовоспалительными и иммуносупрессивными свойствами ИЛ-10 ($r=0.56$, $p<0.04$). Прямые достоверные коррелятивные взаимосвязи между концентрациями провоспалительного цитокина ИЛ-8 и обладающего противовоспалительными свойствами индуктора гуморального звена иммунной системы ИЛ-4 ($r=0.71$, $p<0.01$) и между концентрациями провоспалительного цитокина ИЛ-8 и обладающего противовоспалительными и иммуносупрессивными свойствами ИЛ-10 ($r=0.51$, $p<0.04$). Выявленные корреляционные взаимосвязи свидетельствуют о сопряженности синтеза

провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в механизмах развития местного воспалительного процесса у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией.

Несомненный интерес вызывает наличие в основной группе пациентов с ПДР прямой достоверной коррелятивной взаимосвязи между концентрациями фактора роста эндотелия сосудов и ИЛ-10 ($r=0.46$, $p<0.05$) и между концентрациями трансформирующего фактора роста $\beta 2$ и ИЛ-10 ($r=0.6$, $p<0.04$).

Данные взаимосвязи могут, вероятно, служить подтверждением немногочисленных литературных данных, свидетельствующих о влиянии ИЛ-10 на регуляцию синтеза этих двух факторов роста, обладающих ангиогенной активностью.

Выводы

Выявленные коррелятивные взаимосвязи между изучаемыми биологически активными молекулами свидетельствуют о сопряженности активности иммуновоспалительного, пролиферативного процессов и сосудистой пролиферации в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии.

10.09.2015

Список литературы:

1. Липатов Д.В., Александрова В.К., Атарщиков Д.С., Бессмертная Е.Г., Кон И.Л., Кузьмин А.Г., Смирнова Н.Б., Толкачев А.А., Чистяков Т.А. Эпидемиология и регистр диабетической ретинопатии в Российской Федерации // Сахарный диабет. – 2014. – № 1. – С. 4-7.
2. Lipatov D.V., Alexandrova V.K., Atarshchikov D.S., Bessmertnaja E.G., Con I.L., Kuzmin A.G., Smirnova N.B., Tolkahev A.A., Chistyakov T.A. Epidemiology and register of diabetic retinopathy in the Russian Federation // Diabetes. – 2014. – № 1. – P. 4-7.
3. Черных В.В., Лысков А.Г., Братко В.И., Трунов А.Н. Влияние эфферентных и лимфотропных технологий на течение патологического процесса при диабетической ретинопатии // Офтальмохирургия. – 2008. – № 3. – С.4-7.
4. Chernikh V.V., Lysikov A.G., Bratko V.I., Trunov A.N. Effect of efferent and lymphotropic technologies on the pathologic process in diabetic retinopathy // Ophthalmosurgery. – 2008. – № 3. – P.4-7.
5. Черных В.В., Трунов А.Н., Варваринский Е.В., Смирнов Е.В., Черных Д.В., Обухова О.О., Горбенко О.М., Шваюк А.П. Дисбаланс цитокинов и факторов роста в стекловидном теле пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – №3. – С.61-67.
6. Chernikh V.V., Trunov A.N., Varvarinsky E.V., Smirnov E.V., Chernikh D.V., Obukhova O.O., Gorbenko O.M., Shvayuk A.P. Imbalance of cytokines and growth factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy // Bulletin of Siberian Branch RAMN. – 2014. – №3. – P.61-67.
7. Citirik M., Kabatas E.U., Batman C., Akin K.O., Kabatas N. Vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in proliferative diabetic retinopathy versus proliferative vitreoretinopathy // Ophthalmic Res. – 2012. – Vol. 47, № 1. – P.7-12.
8. Kowluru R.A., Zhong Q., Kanwar M. Metabolic memory and diabetic retinopathy: role of inflammatory mediators in retinal pericytes // Exp. Eye Res. – 2010. – Vol. 90, № 5. – P.617-623.
9. Mohan N., Monickaraj F., Balasubramanyam M., Rema M., Mohan V. Imbalanced levels of angiogenic and angiostatic factors in vitreous, plasma and postmortem retinal tissue of patients with proliferative diabetic retinopathy // J. Diabetes Complications. – 2012. – Vol.26, № 5. – P.435-441.
10. Murugeswari P., Shukla D., Rajendran A., Kim R., Namperumalsamy P., Muthukkaruppan V. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and eales' disease // Retina. – 2008. – Vol.28, № 6. – P.817-824.
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. – Vol.32, № 10. – P.1955-1966.
12. Sadaka A., Giuliani G.P. Proliferative vitreoretinopathy: current and emerging treatments // Clin. Ophthalmol. – 2012. – № 6. – P.1325-1333.
13. Suzuki Y., Nakazawa M., Suzuki K., Yamazaki H., Miyagawa Y. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion // Jpn. J. Ophthalmol. – 2011. – Vol.55, № 3. – P.256-263.

13. Symeonidis C, Papakonstantinou E, Androudi S, Rotsos T, Diza E, Brazitikos P, Karakiulakis G, Dimitrakos S.A. Interleukin-6 and the matrix metalloproteinase response in the vitreous during proliferative vitreoretinopathy // Cytokine. – 2011. – Vol.54, № 2. – P.212-217.
14. Wakabayashi Y., Usui Y., Okunuki Y., Kezuka T., Takeuchi M., Iwasaki T., Ohno A., Goto H. Increases of vitreous monocyte chemotactic protein 1 and interleukin 8 levels in patients with concurrent hypertension and diabetic retinopathy // Retina. – 2011. – Vol.31, № 9. – P.1951-1957.
15. Wakabayashi Y., Usui Y., Okunuki Y., Ueda S., Kimura K., Muramatsu D., Kezuka T., Goto H. Intraocular VEGF level as a risk factor for postoperative complications after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2012. – Vol.53, № 10. – P.6403-6410.
16. Zorena K., Raczynska D., Wiśniewski P. Relationship between serum transforming growth factor β 1 concentrations and the duration of type 1 diabetes mellitus in children and adolescents // Mediators Inflamm. – 2013. – Vol. 2013. – P. 849457.

Сведения об авторах:

Черных Дмитрий Валерьевич, врач-офтальмолог, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Смирнов Евгений Валерьевич, врач-офтальмолог, кандидат медицинских наук, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Братко Галина Викторовна, ведущий научный сотрудник, кандидат медицинских наук
e-mail: gbratko@yandex.ru

Обухова Ольга Олеговна, доктор медицинских наук, в.н.с. , e-mail: trio@yandex.ru

Горбенко Ольга Михайловна, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук,
e-mail: trunov1963@yandex.ru

Шваюк Аля Петровна, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук
e-mail: trunov1963@yandex.ru

Черных Валерий Вячеславович, директор Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза»
им. акад. С.Н. Федорова», доктор медицинских наук, профессор, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Трунов Александр Николаевич, заместитель директора по научной работе Новосибирского филиала
МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, руководитель лаборатории иммунологии
НИИ экспериментальной и клинической медицины, доктор медицинских наук, профессор
e-mail: trunov1963@yandex.ru