

УДК 617.735-002-02:616.379-008.64-085.849.19

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ НЕКОТОРЫХ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ

Н. В. Пасечникова, д. м. н., проф., **И. П. Метелицына**, д. б. н., проф.,

В. А. Науменко, к. м. н., **В. Д. Беляев**, врач

Государственное учреждение «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины», Одесса

У пацієнтів з діабетичною ретинопатією пре- і проліферативної стадії, яким була проведена панретинальна лазеркоагуляція сітківки, досліджували рівень інтерлейкінів 1-β, 4, 6, 10 в крові до лікування, через 3 дні та місяць після впливу. Виявлено, що у випадку підвищеного вихідного рівня цитокінів має місце прогресування захворювання не зважаючи на проведення лазеркоагуляції. Отримані дані можуть бути використані з метою прогнозування результату панретинальної лазеркоагуляції сітківки у хворих на діабетичну ретинопатію.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, лазеркоагуляция сетчатки, про- и противовоспалительные цитокины.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, лазеркоагуляція сітківки, про- і протизапальні цитокіни.

Введение. Лазерная коагуляция — наиболее эффективный метод лечения диабетической ретинопатии (ДР). Воздействие на зоны ишемии сетчатой оболочки ведет к регрессу новообразованных сосудов. Своевременно и квалифицированно проведенное лечение позволяет сохранить остроту зрения 0,5 и выше на поздних стадиях ДР у 58% больных в течение 15 лет [1, 11].

Крупные рандомизированные исследования показали стабилизацию процесса пролиферативной диабетической ретинопатии у 50% больных, которым была проведена панретинальная лазерная коагуляция сетчатки [4]. По данным разных авторов, панретинальная лазеркоагуляция способствует полному регрессу новообразованных сосудов в 59-64% случаев. Частичный регресс новообразованных сосудов имеет место в 23% случаев, отсутствие эффекта — в 13% случаев [3].

Учитывая данные литературы о роли цитокинов в развитии различной патологии человека, в том числе как активных биорегуляторов воспалительных и репаративных процессов в иммунопатогенезе заболеваний глаз, уровень содержания цитокинов может служить одним из критериев, характеризующих динамику патологического процесса [9].

Ранее нами было показано, что у больных ДР в периферической крови достоверно повышен уровень интерлейкинов 4, 6, 10 и 1β. По мере прогрессирования заболевания выявлено увеличение вышеназванных цитокинов, наиболее выраженное при пролиферативной ДР по сравнению с соответ-

ствующими данными у здоровых лиц. Прогрессирование патологических изменений на глазном дне при непролиферативной ДР слабой, средней и тяжелой степени также сопровождается повышением концентрации исследуемых цитокинов [6]. Кроме того исследование в динамике показали, что у пациентов с прогрессированием заболевания уровень интерлейкинов 4, 6, 10 и 1β значительно выше соответствующих значений у лиц без прогрессирования заболевания, что свидетельствует о возможности использования этих показателей для прогнозирования течения диабетической ретинопатии [5].

По данным литературы, увеличение выраженности сдвигов в цитокиновом статусе ассоциируется с переходом ДР в пролиферативную стадию. Признаками риска манифестации ДР являются значительное повышение ФНО-α и ИЛ-8 в слезе, ФНО-α в сыворотке крови, при развитии пролиферативного процесса обнаружено накопление ИЛ-6 в субретинальной жидкости и стекловидном теле. У пациентов с активной формой ДР отмечено значительное увеличение уровня фактора роста эндотелия сосудов и ИЛ-6 в переднекамерной влаге и стекловидном теле, что коррелирует с тяжестью заболевания [13]. Иммуный статус пациента влияет и на результат лечения ДР с использованием лазеркоагуляции сетчатки. Положительный эффект ассоциируется с тенденцией к нормализации продукции цитокинов, а

© Н. В. Пасечникова, И. П. Метелицына,
В. А. Науменко, В. Д. Беляев, 2010

при неблагоприятных исходах (дальнейшее прогрессирование ДР) имеет место нарастание их сдвигов. Выявление ФНО- α до или после лазеркоагуляции может служить прогностически неблагоприятным критерием повышенного риска прогрессирования ДР [8]. Определение фактора роста эндотелия сосудов в крови пациентов с ДР до и после проведения панретинальной коагуляции сетчатки показало, что уровень этого фактора у больных превышал таковой в контрольной группе. После выполнения лазеркоагуляции фактор роста эндотелия сосудов снижался, что рассматривается авторами как один из важнейших механизмов терапевтического действия аргон-лазеркоагуляции сетчатки при ДР [7].

Оптимальные показания к проведению панретинальной лазерной коагуляции сетчатки больным с ДР окончательно не определены. В успешных случаях это воздействие приводит не только к стабилизации процессов неоваскуляризации и глиоза, но и к частичному или полному исчезновению возникших ранее новообразованных сосудов. Частота положительных исходов своевременно выполненной панретинальной лазерной коагуляции сетчатки достигает 70-80%, а сохранение зрительных функций и стабилизация процесса на глазном дне при своевременно проведенной панретинальной лазеркоагуляции сетчатки наблюдаются у 60% больных [12].

Цель настоящего исследования — определить характер изменения уровня про- и противовоспалительных цитокинов у больных ДР после лазерной коагуляции сетчатки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. В течение шести месяцев под нашим наблюдением находились 9 пациентов СД (5 мужчин и 4 женщины), стаж заболевания которых составлял от 3 до 17 лет. Возраст пациентов колебался в пределах 36 — 69 лет. Больных, страдающих СД I типа, было 3 человека (33,3%), пациентов с СД II типа — 6 человек (66,7%).

В соответствии с классификацией, предложенной ETDRS [10], у трех больных диагностирована препролиферативная ДР (33,3%), у шести — начальная пролиферативная ДР (66,7%).

Всем пациентам проведено офтальмологическое обследование (визометрия, тонометрия, биомикроскопия, офтальмоскопия с широким зрачком), фотографирование глазного дна с использованием модифицированного ретинофота.

Помимо офтальмологического обследования все пациенты находились под наблюдением эндокринолога, который при необходимости проводил коррекцию сахароснижающей терапии.

В качестве лечения больным проведена панретинальная лазеркоагуляция сетчатки. Использована методика, предложенная Н. В. Пасечниковой, которая заключается в проведении коагуляции сетчатки в 3-4 этапа (600-800 коагулятов за каждый сеанс с промежутками 2-4 недели между сеансами) [4]. Оперативное лечение проводилось на лазерном коагуляторе Eyleite 532, Alcon. Размер лазерного пятна на сетчатке 300-500 нм, экспозиция 0,1 с, скважность 300, мощность лазерного излучения от 0,09 до 0,3 Вт, расстояние между коагулятами 1-2 диаметра коагулята. На первом сеансе коагуляты наносились от нижней аркады к периферии с постепенным

увеличением диаметра лазерного луча. Далее проводилась лазеркоагуляция сетчатки в остальных трех квадрантах.

До лечения, через 3 дня и 1 месяц после лазеркоагуляции в плазме крови определяли уровень ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-1 β иммуноферментным методом с использованием тест-систем и соответствующих инструкций по применению наборов реагентов для количественного определения человеческих ИЛ в биологических жидкостях человека и культуральных средах.

В качестве контрольных значений исследуемых цитокинов использовали данные, полученные нами в плазме крови практически здоровых лиц (волонтеров, 10 человек).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 с использованием параметрического критерия Стьюдента и непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилкоксона [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. На момент проведения лазерной коагуляции у всех пациентов признаки воспаления офтальмоскопически не были выявлены. Острота зрения составляла 0,01-0,9 с коррекцией.

На третий день после проведения панретинальной лазеркоагуляции сетчатки не выявлено признаков воспалительной реакции глаз, по ходу нанесения лазеркоагулятов отмечены серовато-белые хориоретинальные ожоги различного диаметра с четкими краями. Внутриглазное давление в пределах нормы, острота зрения — 0,01-0,9 с коррекцией.

На 30 день после панретинальной лазеркоагуляции также отсутствовали признаки воспалительной реакции глаза. На глазном дне в месте проведения лазеркоагуляции определялись хориоретинальные очаги с глыбками пигмента в центре. Внутриглазное давление в норме, острота зрения — 0,01-0,7 с коррекцией.

Результаты определения интерлейкинов в крови этих пациентов показали, что у лиц с препролиферативной и начальной пролиферативной стадией ДР их исходный уровень был выше соответствующих значений у здоровых волонтеров в 2,4, 5,1, 16,2 и 13,5 раз соответственно ($p < 0,0001$ во всех случаях) (табл., рис. 1). Данные динамики свидетельствуют о значительном увеличении концентрации вышеуказанных цитокинов через 3 дня после панретинальной лазеркоагуляции. Их уровень в 6,7; 11,4; 29,3 и 31 раз больше таковых данных в контроле ($p < 0,0001$). Через месяц после проведения панретинальной лазеркоагуляции экспрессия цитокинов снижается, однако их уровень выше соответствующих исходных значений на 16,5, 34,0, 9,2 и 35,0% ($p > 0,05$ во всех случаях).

Через 6 месяцев после проведения панретинальной лазеркоагуляции отмечено прогрессирование ДР у трех пациентов. У одного больного с пролиферативной стадией, неоваскулярно-глиальной формой — до пролиферативной стадии, глиальной формы. У двух больных с препролиферативной стадией ДР, экссудативно-геморрагической формой — до пролиферативной стадии, неоваскулярно-глиальной формы. Острота зрения у данных пациентов была 0,01-0,4 с коррекцией.

Уровень интерлейкинов в крови больных ДР после панретинальной лазерной коагуляции (пг/мл)

Исследуемые группы	Стат. по-казатели	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-10	ИЛ-1β
Контроль (здоровые волонтеры) (n=10)	M±SD	1,30±0,37	1,96±0,96	5,09±7,66	0,19±0,32
До лазеркоагуляции (n=9)	M±SD	3,16±0,90	10,08±3,14	82,66±18,74	2,57±0,70
	p	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001
Через 3 дня после лазеркоагуляции (n=9)	M±SD	8,73±2,75	22,24±6,24	149,20±49,51	5,89±2,46
	p	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001
Через месяц после лазеркоагуляции (n=9)	M±SD	3,68±1,12	13,51±5,76	90,27±23,83	3,47±1,90
	p	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001	= 0,0001

p — достоверность различий по отношению к данным у здоровых лиц.

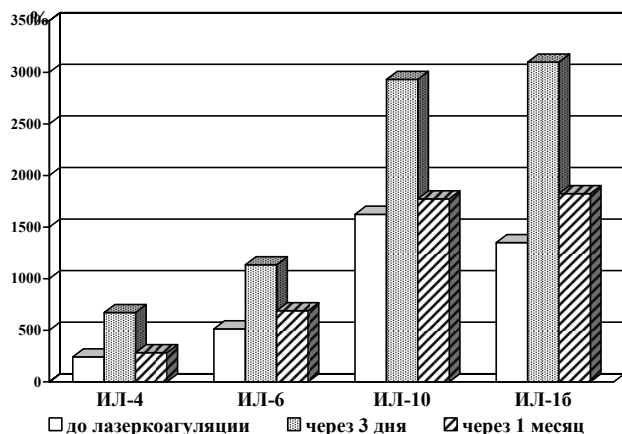


Рис. 1. Уровень интерлейкинов у больных диабетической ретинопатией в динамике наблюдения после проведения панретинальной лазерной коагуляции сетчатки (% по отношению к данным у здоровых лиц).

Анализ направленности и выраженности изменений концентрации исследованных цитокинов с учетом выявленного факта прогрессирования ДР у трех пациентов наблюдаемой группы показал значительно более высокий уровень цитокинов у этих лиц до лечения и более выраженную их экспрессию через 3 дня после проведения панретинальной лазеркоагуляции сетчатки. Так, исходные значения в этой подгруппе составляли 4,17±0,15, 14,17±0,96, 104,43±14,0 и (3,40±0,30) пг/мл, для ИЛ 4, 6, 10 и 1β, что в 1,6, 1,8, 1,5 и 1,6 раз больше соответствующих значений у пациентов без прогрессирования ДР после лечения в течение полугода (различия достоверны по критерию Манна-Уитни, p=0,02 во всех случаях). Через 3 дня после лазеркоагуляции уровень определяемых ИЛ в этой подгруппе превышал таковой у лиц без прогрессирования ДР в 1,6, 1,6, 1,7 и 2,1 раза (различия достоверны по критерию Манна-Уитни, p=0,04, 0,019, 0,02 и 0,02 для ИЛ 4, 6, 10 и 1β). Снижение экспрессии цитокинов через месяц после лечения у лиц этой подгруппы было менее выраженным чем у больных без прогрессирования ДР (различия достоверны по критерию Манна-Уитни, p=0,02 для всех определяемых интерлейкинов) (рис. 2).

У остальных 6 больных прогрессирования ДР не отмечено. Острота зрения оставалась прежней

(0,01-0,9 с коррекцией), внутриглазное давление в норме, признаков воспалительной реакции глаза не наблюдалось.

Исходный уровень исследуемых цитокинов у этих пациентов оказался ниже соответствующих значений в подгруппе с прогрессированием ДР. Через 3 дня после лечения их экспрессия менее выражена, а через месяц различия по сравнению с соответствующими исходными данными — незначительны и недостоверны (по парному критерию Вилкоксона p=0,22, 0,12, 0,35 и 0,68 для ИЛ 4, 6, 10 и 1β соответственно).

Заключение. Таким образом, повышение уровня исследуемых про- и противовоспалительных цитокинов имеет место при неблагоприятном течении ДР, характеризующемся прогрессированием заболевания. Панретинальная лазерная коагуляция, проведенная пациентам с пре- и пролиферативной ДР на фоне увеличения уровня ИЛ 4, 6, 10 и 1β в крови, не оказывает стабилизирующего эффекта на патологический процесс. Полученные данные могут быть использованы с целью прогнозирования результата панретинальной лазеркоагуляции сетчатки у больных диабетической ретинопатией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Астахов Ю. С., Шадричев Ф. Е., Лисочкина А. Б. Лазеркоагуляция сетчатки при лечении диабетической ретинопатии // Клини. офтальмол. — 2000. — Т. 1. — № 1. — С. 36-38.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. — М: Практика, 1998. — 459 с.
3. Нестеров А. П. Диабетическая ретинопатия // РМЖ. — 2000. — Т. 8. — № 1. — С. 15.
4. Пасечникова Н. В. Лазерное лечение при патологии глазного дна. — К.: Наукова думка, 2007. — С. 18-52.
5. Пасечникова Н. В., Науменко В. А., Метелицына И. П., Беляев В. Д. Исследование уровня некоторых про- и противовоспалительных цитокинов при развитии и прогрессировании диабетической ретинопатии // Український медичний альманах. — 2009. — Т. 12. — № 6. — С. 140-142.
6. Пасечникова Н. В., Науменко В. А., Метелицына И. П., Беляев В. Д. Уровень некоторых про- и противовоспалительных цитокинов у больных диабетической ретинопатией // Харківська хірургічна школа. — 2009. — Т. 38. — № 4. — С. 75-78.

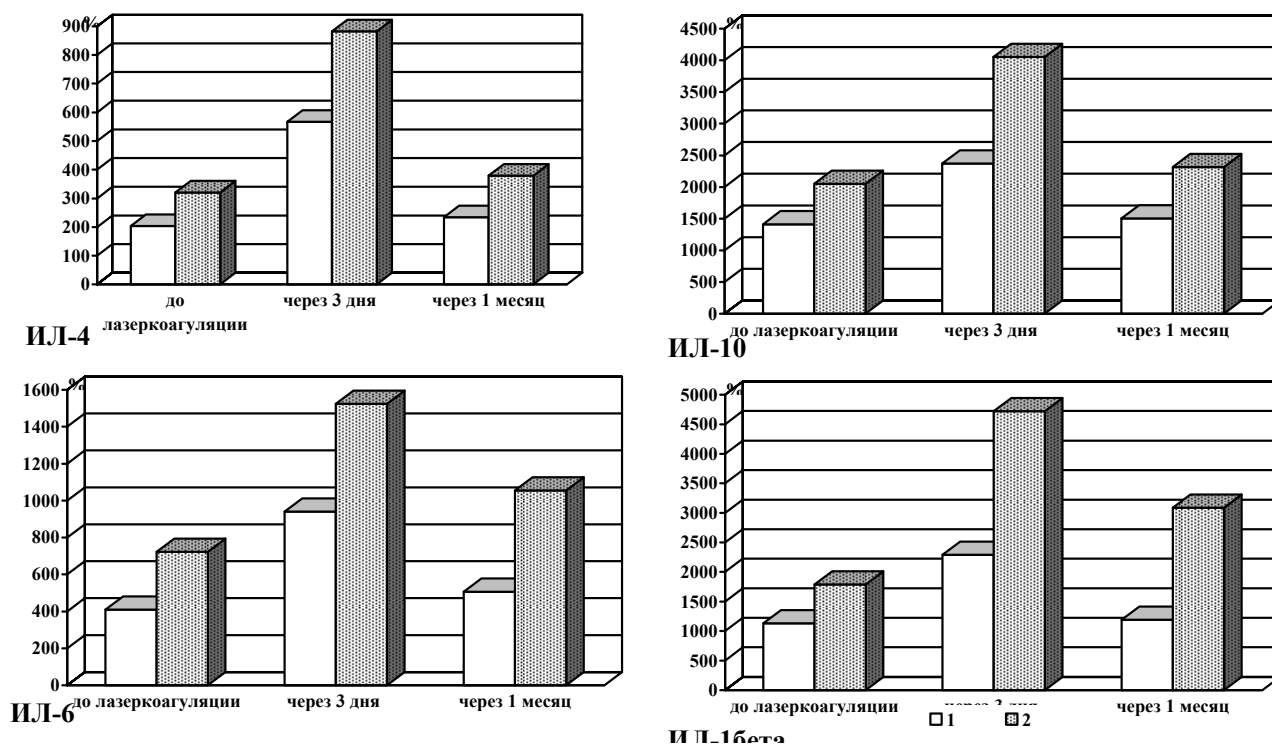


Рис. 2. Уровень интерлейкинов у больных диабетической ретинопатией (1 — без прогрессирования в течение 6 месяцев после проведения панретиальной лазерной коагуляции, 2 — с прогрессированием ДР) в динамике наблюдения после проведения панретиальной лазерной коагуляции сетчатки (% по отношению к данным у здоровых лиц).

7. Сидорова М. В. Изучение роли нейросенсибилизации в патогенезе диабетической ретинопатии и способы коррекции выявленных нарушений / Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Киев, 2003. — 18 с.
8. Слепова О. С., Герасименко В. Л., Захарова Г. Ю., Новикова-Билак Т. И. Сравнительное исследование роли цитокинов при разных формах глазных заболеваний. Сообщение 2. Диабетическая ретинопатия // Вестн. офтальмол. — 2001. — № 3. — С. 35-37.
9. Шаимова В. А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4. — № 2. — С. 13-15.
10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9 // Ophthalmology. — 1981. — V. 98. — № 5. — P. 766-785.
11. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Techniques for scatter and local photocoagulation treatment of diabetic retinopathy. ETDRS report number 3 // Int. Ophthalmol. Clin. — 1987. — V. 27. — P. 254-264.
12. Ferris F., Fine S., Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy // Arch. Ophthalmol. — 1984. — V. 102. — P. 1640-1643.
13. Funatsu H., Yamashita H., Noma H. et al. Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients // PMID: 15258777 [PubMed — indexed for MEDLINE].

Поступила 29.01.2010.
Рецензент канд. мед. наук А. Р. Король.

CHANGES IN THE LEVEL OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY AFTER LASER COAGULATION OF THE RETINA

Pasechnikova N. V., Naumenko V. A., Metelitsina I. P., Belyaev V. D.
Odessa, Ukraine

The patients with diabetic retinopathy of pre- and proliferating stage who were performed panretinal laser coagulation of the retina, were investigated for the level of interleukins of 1-β, 4, 6, 10 in the blood before the treatment, 3 days and a month after the influence. It was revealed that in case of the increased initial level of cytokines there was progression of the disease in spite of laser coagulation. The data obtained can be used for prognostication of the result of panretinal laser coagulation of the retina in patients with diabetic retinopathy.