

УРОВЕНЬ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- α И ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У БОЛЬНЫХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКИ СЕТЧАТКИ

Г.В. Левицкая

*ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии
им. В.П. Филатова НАМН Украины»*

Введение

По данным нозологической структуры первичной инвалидности по зрению в Украине патология глазного дна в 2012 г. составила 17,4%, включая в т.ч. исходы лечения регматогенной отслойки сетчатки (РОС) [1]. Социально-экономическая значимость РОС определяется отсутствием полного восстановления остроты зрения при положительных результатах хирургического лечения, что может приводить к ограничению трудоспособности.

В связи с вышесказанным, актуальным является выяснение основных звеньев патогенеза отслойки сетчатки с целью метаболической коррекции выявленных нарушений. В научной литературе представлено значительное количество исследований, посвященных различным аспектам этого заболевания, однако, большинство из них остаются без ответа [12].

Важную роль в механизмах развития патологического процесса при отслойке сетчатки отводят ряду факторов, в первую очередь, наследственных, гемодинамических, механических и метаболических [10, 16]. Среди последних следует отметить цепь нарушений, приводящих к дисбалансу продукции реактивных форм кислорода и способности антиоксидантов их элиминировать, что вызывает оксидантный стресс нейронов, а также хроническую гипоксию, которая является причиной системной воспалительной реакции. Поврежденные ишемией клетки сетчатки усиливают секрецию провоспалительных цитокинов с последующим развитием вторичной реакции локального воспаления [6, 17].

Цитокины являются белковыми или полипептидными продуктами активированных клеток иммунной системы, регулируемыми природу иммунного ответа [9]. В большинстве случаев цитокины

действуют локально, как аутокринны или паракринны, в меньшей степени – дистантно, как эндокринны, принимая участие во всех основных местных и системных реакциях, которые обеспечивают воспаление, репарацию и ангиогенез [3].

В разных условиях и при различных патологических состояниях органа зрения выявлено, что концентрация провоспалительных цитокинов в структурах и жидкостях глаза значительно превышает системный уровень, что может свидетельствовать об их синтезе тканями глаза и значении локального иммунного конфликта [9].

В ишемизированной сетчатке установлен факт повышенного синтеза факторов роста, что может рассматриваться как основной стимул пролиферации и неоваскуляризации [13, 18]. Наиболее значимым регулятором эндотелиальной клеточной пролиферации, сосудистой проницаемости и медиатором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС) [4, 8, 14], который выделяется эндотелиоцитами, ганглионарными, глиальными клетками, клетками Мюллера, пигментного эпителия и перицитами сетчатки и хориоидеи как в норме, так и при патологии [7].

На ангиогенные и фибропластические возможности сетчатки влияет также фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), который принимает участие в развитии иммунного ответа, обуславливая пролиферацию В- и Т-лимфоцитов и предупреждает возникновение иммунологической толерантности. В результате высвобождения ФНО- α повреждаются эндотелий сосудов, увеличивается микроваскулярная проницаемость, которая вызывает активирование системы гемостаза и комплемента [15].

Одновременно провоспалительные цитокины, к которым относятся ФНО- α и ФРЭС, активируют метаболизм соединительной ткани, стимулируют пролиферацию фибробластов и клеток эпителия, что имеет важное значение для восстановления целостности поврежденной ткани [11]. Учитывая тот факт, что при отслойке сетчатки имеет место острая ишемия ее наружных слоев, обоснованной является реакция локального воспаления [6, 17]. Однако в литературе не представлены данные об изменениях уровня цитокинов, развивающихся в жидкостях и тканях глаза на фоне достигнутого прилегания сетчатки в результате оперативного вмешательства по поводу отслойки сетчатки. Изучение связи исходного цитокинового уровня и его изменения в послеоперационном

периоде у больных РОС представляет определенный интерес не только для более полного представления о патогенезе заболевания, но и разработки новых методов лечения.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Исследования были проведены в рамках плана научно-исследовательской работы (НИР) ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины» и являются фрагментом темы НИР «Разработать дифференцированные подходы к лечению отслойки сетчатки различной этиологии на основе выявления комплекса наиболее значимых факторов, определяющих эффективность лечения» (№ госрегистрации 0107U00265).

Цель - выявить особенности экспрессии ФНО- α ФРЭС в стекловидном теле и витреальной жидкости у больных РОС с разной клинической картиной.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находилось 79 больных РОС (79 глаз), из них 36 мужчин, 43 – женщин. Возраст пациентов колебался в пределах 18-77 лет. Всем пациентам проведено стандартное офтальмологическое обследование (визометрия, тонометрия, рефрактометрия, биомикроскопия, офтальмоскопия, ультразвуковое исследование). Среди наблюдаемых пациентов протяженность отслойки сетчатки до 6 часов была у 17 человек, что составило 21,5%, у 37 человек высота отслойки характеризовалась как высокая (47,8% от всех обследованных), в 8,9% случаев (7 человек) длительность отслойки была до 10 дней. У всех пациентов с целью устранения отслойки сетчатки выполнена стандартная трехпортовая 20G витрэктомия, при необходимости с удалением эпиретинальных мембран, пневмогидравлическим расправлением сетчатки, проведением эндолазеркоагуляции сетчатки. Операцию завершали перфторпропаной тампонадой витреальной полости.

Уровень цитокинов - ФНО- α и ФРЭС определяли в стекловидном теле (27 образцов) и витреальном содержимом (60 образцов) иммуноферментным методом с использованием тест систем и соответствующих инструкций по применению наборов реагентов для количественного определения человеческих интерлейкинов в биологических жидкостях и культуральных средах. Следует отметить, что количество исследуемых образцов больше числа обследованных пациентов, так как у 8 из них было получено для анализа как стекловидное тело, так и витреальное содержимое.

Забор материала для исследований осуществляли во время витрэктомии - стекловидное тело, а также во время проведения дополнительной заместительной газовой тампонады в послеоперационном периоде (через 1-2 дня после хирургического вмешательства) – витреальное содержимое [5].

Анализ уровня цитокинов в стекловидном теле и витреальном содержимом проводили в зависимости от протяженности, высоты отслойки сетчатки и давности заболевания.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Для попарного сравнения двух групп использовали параметрический критерий Стьюдента с предварительной оценкой нормальности распределения, для определения корреляционной связи – коэффициент ранговой корреляции Спирмена [2].

Полученные результаты и их обсуждение

Предварительно, нами был определен уровень ($M \pm SD$) ФНО- α и ФРЭС в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных РОС вне зависимости от клинической картины заболевания. Полученные результаты показали, что содержание ФНО- α , также как и ФРЭС выше в витреальном содержимом ($129,3 \pm 61,03$ пг/мл и $1388,1 \pm 401,5$ пг/мл), чем в стекловидном теле ($89,28 \pm 43,54$ пг/мл и $929,0 \pm 351,8$ пг/мл). Данный факт, вероятно, свидетельствует о преобладании процессов послеоперационного воспаления, так как образцы витреального содержимого забирались на 1-2 сутки после витрэктомии, на процессах восстановления за счет достигнутого прилегания сетчатки.

В данном исследовании нами проанализирован уровень вышеуказанных цитокинов у больных РОС с учетом степени тяжести патологического процесса.

Таблица 1

Уровень цитокинов у больных с разной протяженностью отслойки сетчатки (пг/мл)

Протяженность отслойки	Стат. показатели	Стекловидное тело		Витреальное содержимое	
		ФНО- α	ФРЭС	ФНО- α	ФРЭС
до 6 часов	n	7	7	13	13
	$M \pm SD$	$44,97 \pm 20,38$	$559,6 \pm 249,8$	$85,59 \pm 25,05$	$1138,0 \pm 271,3$
более 6 часов	n	20	20	47	47
	$M \pm SD$	$104,8 \pm 38,56$	$1058,3 \pm 285,9$	$141,4 \pm 62,65$	$1457,2 \pm 406,2$
	p	0,0007	0,0004	0,003	0,010

В таблице 1 представлены данные, характеризующие эти показатели у лиц с разной протяженностью отслойки сетчатки. Во всех случаях уровень исследуемых цитокинов достоверно выше при большей протяженности отслойки. Так, уровень ФНО- α в стекловидном теле в 2,3 раза выше при протяженности отслойки более 6 часов по сравнению с соответствующими показателями при отслойке до 6 часов, в витреальном содержимом – в 1,7 раза. Содержание ФРЭС у больных с большей протяженностью отслойки выше в 1,9 раза в стекловидном теле и в 1,3 раза - в витреальном содержимом.

Анализ соответствующих данных с учетом высоты отслойки выявил аналогичную направленность изменений обоих параметров как в стекловидном теле, так и в витреальном содержимом (табл. 2). При этом более выраженные различия отмечены в стекловидном теле. Так, уровень ФНО- α при бугристой отслойке сетчатки выше в 2,2 раза в стекловидном теле и в 1,7 раза в витреальном содержимом, а уровень ФРЭС – соответственно в 1,7 и 1,4 раза относительно соответствующих данных при высокой отслойке.

Таблица 2

Уровень цитокинов у больных с разной высотой отслойки макулярной области сетчатки (пг/мл)

Высота отслойки	Стат. показатели	Стекловидное тело		Витреальное содержимое	
		ФНО- α	ФРЭС	ФНО- α	ФРЭС
высокая	n	14	14	27	27
	M \pm SD	57,33 \pm 20,21	93,12 \pm 27,37	705,1 \pm 277,4	1123,1 \pm 265,1
бугристая	n	13	13	33	33
	M \pm SD	123,7 \pm 34,52	158,9 \pm 65,20	1170,1 \pm 251,5	1604,8 \pm 364,0
	p	0,000002	0,0001	0,000008	0,000000

У пациентов с давностью отслойки сетчатки более 10 дней концентрация исследуемых цитокинов также достоверно повышается относительно данных у лиц со свежей отслойкой (менее 10 дней). Эти различия составляют для ФНО- α 113,9% в стекловидном теле и 65,5% в витреальном содержимом, а для ФРЭС – 149,6 и 29,2% соответственно (табл. 3).

Определение коэффициента ранговой корреляции Спирмена позволило выявить наличие достоверной корреляционной связи высокой и средней степени между протяженностью, высотой, длительностью отслойки сетчатки и уровнем определяемых цитокинов как в стекловидном теле, так и в витреальном содержимом (табл. 4).

Таблица 3

Уровень цитокинов у больных с разной длительностью отслойки сетчатки (пг/мл)

Длительность отслойки	Стат. показатели	Стекловидное тело		Витреальное содержимое	
		ФНО- α	ФРЭС	ФНО- α	ФРЭС
До 10 дней	n	3	3	6	6
	M \pm SD	44,37 \pm 29,86	398,7 \pm 165,2	81,35 \pm 24,65	1099,0 \pm 283,2
более 10 дней	n	24	24	54	54
	M \pm SD	94,89 \pm 42,07	995,3 \pm 310,2	134,6 \pm 61,65	1420,2 \pm 401,7
	p	0,056	0,003	0,042	0,063

Таблица 4

Ранговая корреляционная связь между уровнем цитокинов и клиническими характеристиками регматогенной отслойки сетчатки

Клинический признак	Исследуемые цитокины	Стекловидное тело			Витреальное содержимое		
		n	r Спирмена	p	n	r Спирмена	p
протяженность	ФНО- α	27	0,705301	0,000040	60	0,392465	0,001925
	ФРЭС	27	0,661898	0,000170	60	0,301353	0,019292
высота	ФНО- α	27	0,846992	0,000000	60	0,518451	0,000022
	ФРЭС	27	0,732791	0,000014	60	0,586151	0,000001
длительность	ФНО- α	27	0,393398	0,042344	60	0,290327	0,024432
	ФРЭС	27	0,514443	0,006044	60	0,219747	0,091596

В целом, выявленные закономерности свидетельствуют о роли нарушений экспрессии исследуемых цитокинов в механизмах развития РОС и являются основанием для использования иммунокорректоров в комплексной терапии.

Выводы

1. Проведённые исследования позволили заключить, что у пациентов с РОС после витрэктомии на фоне достигнутого прилегания сетчатки в витреальном содержимом происходит повышение уровня ФНО- α и ФРЭС до 129,3 \pm 61,03 пг/мл и 1388,1 \pm 401,5 пг/мл соответственно, что выше средних значений таковых показателей в стекловидном теле в полтора раза в обоих случаях. Эти данные свидетельствует, вероятно, об усилении внутриглазного воспаления как ответ на хирургическое вмешательство и обуславливают

целесообразность проведения адекватной терапии, блокирующей синтез провоспалительных цитокинов.

2. Степень выраженности изменений уровней ФНО- α и ФРЭС в стекловидном теле и витреальной жидкости соответствуют тяжести клинической картины регматогенной отслойки сетчатки, причем при наиболее выраженные изменения цитокинового профиля выявлены у пациентов с бугристой отслойкой сетчатки и ее протяженностью более 6 час.

Литература

1. Аліфанова Т.А. Динамічні спостереження нозологічної структури первинної інвалідності по зору в Україні / Т.А. Аліфанова, О.Л. Чуйко, Ю.Ю. Гладченко // Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів з міжнародною участю „Філатовські читання”, присвяченої 80-річчю тканинної терапії за методом академіка В.П. Філатова (Одеса, 23-24 травня 2013 р.). - Одеса, 2013. - С. 302.

2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. - М.: Практика, 1998. - 459 с.

3. Кетлинский С.А. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина // Иммунология. - 1995. - № 3. - С. 30-41.

4. Круглый стол. Роль эндотелиального сосудистого фактора роста в развитии заболеваний сетчатки // Новое в офтальмологии. - 2005. - № 3. - С. 56-61.

5. Левицкая Г.В. Возможности минимизации хирургии регматогенной отслойки сетчатки / Г.В. Левицкая // Сборник тезисов IX научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии – 2011» (Москва, 10-11 марта 2011 г.). - М.: ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза», 2011. - С. 123-125.

6. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2002. - № 1. - С. 50-56.

7. Скрипник Р.Л. Влияние панретинальной лазерной коагуляции сетчатки на уровень ростового фактора васкулотропина при диабетической ретинопатии / Р.Л. Скрипник // Офтальмол. журн. - 2003. - № 4. - С. 66-68.

8. Халаим А.В. Опыт применения препаратов – ингибиторов сосудистого эндотелиального фактора роста в офтальмологии / А.В. Халаим, Г.Е. Столяренко // Вестн. офтальмол. - 2007. - № 5. - С. 54-57.

9. Шаимова В.А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз / В.А. Шаимова // Офтальмохирургия и терапия. - 2004. - Т. 4, № 3. - С. 30-32.

10. Adamis A.P. Synthesis and secretion of vascular permeability factor / vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cell / A.P. Adamis, D.T. Shima, K.T. Yeo [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1993. - Vol. 193, № 2. - P. 631-638.

11. Andreoli C.M. Anti-vascular endothelial growth factor therapy for ocular neovascular disease / C.M. Andreoli, J.W. Miller // Curr. Opin. Ophthalmol. - 2007. - Vol. 18, № 6. - P. 502-508.

12. Ghazi N.G. Pathology and pathogenesis of retinal detachment / N.G. Ghazi, W.R. Green // Eye. - 2002. - Vol. 16. - P. 411-421.

13. Grant M.B. The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy / M.B. Grant, A. Afzal, P. Spoerri [et al.] // Expert. Opin. Investig. Drugs. - 2004. - Vol. 13, № 10. - P. 1275-1293.

14. Ishida S. VEGF164-mediated inflammation is required for pathological, but not physiological, ischemia-induced retinal neovascularization / S. Ishida, T. Usui, K. Yamashiro [et al.] // Exp. Med. - 2003. - Vol. 198. - № 3. - P. 483-489.

15. Mysliwiec M. The assessment of the correlation between vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6), glycaemic control (HbA1c) and the development of the diabetic retinopathy in children with diabetes mellitus type 1 / M. Mysliwiec, A. Balcerska, K. Zorena [et al.] // Klin. Oczna. - 2007. - Vol. 109, № 4-6. - P. 150-154.

16. Mysliwiec M. The role of vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in pathogenesis of diabetic retinopathy / M. Mysliwiec, A. Balcerska, K. Zorena [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. - 2008. - Vol. 79, № 1. - P. 141-146.

17. Naldini A. Role of inflammatory mediators in angiogenesis / A. Naldini, F. Carraro // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy. - 2005. - № 4 (1). - P. 3-8.

18. Shima D.T. Hypoxic induction of endothelial cell growth factors in retinal cells: identification and characterization of vascular endothelial growth factor (VEGF) as the mitogen / D.T. Shima, A.P. Adamis, N. Ferrara [et al.] // Mol. Med. - 1995. - Vol. 1, № 2. - P. 182-193.

Резюме

Левицька Г.В. Рівень фактора некрозу пухлини α і фактора росту ендотелію судин у хворих з різним ступенем важкості відшарування сітківки.

У хворих на регматогенне відшарування сітківки визначено рівень ФНП- α і ФРЭС в склоподібному тілі і віт реальній рідині з урахуванням важкості захворювання. Виявлено, що їх концентрація значно вище в витреальній рідині, ніж у склоподібному тілі. Встановлено прямий достовірний кореляційний зв'язок високого і середнього ступеня між розповсюдженістю, висотою, тривалістю відшарування сітківки і рівнем визначених цитокинів як у склоподібному тілі, так

і у вітреальній рідині. Крім того, визначена більш виразна активація досліджуваних цитокінів в склоподібному тілі порівняно з вітреальним вмістом при більш тяжкій вихідній клінічній характеристиці захворювання.

Ключові слова: регматогенне відшарування сітківки, фактор некрозу пухлини α , фактор росту ендотелію судин, скловидне тіло, вітреальний вміст.

Резюме

Левицкая Г.В. *Уровень фактора некроза опухоли α и фактора роста эндотелия сосудов у больных с разной степенью тяжести отслойки сетчатки.*

У больных регматогенной отслойкой сетчатки определен уровень ФНО- α и ФРЭС в стекловидном теле и витреальном содержимом с учетом тяжести заболевания. Выявлено, что их концентрация значительно выше в витреальном содержимом, чем в стекловидном теле. Установлена прямая достоверная корреляционная связь высокой и средней степени между протяженностью, высотой, длительностью отслойки сетчатки и уровнем определяемых цитокинов как в стекловидном теле, так и в витреальном содержимом. Кроме того, определена более выраженная активация исследуемых цитокинов в стекловидном теле по сравнению с витреальным содержимым при более тяжелой исходной клинической характеристике заболевания.

Ключевые слова: регматогенная отслойка сетчатки, фактор некроза опухоли α , фактор роста эндотелия сосудов, стекловидное тело, витреальное содержимое.

Summary

Levitska G.V. *The level of tumor necrosis factor α and vascular endothelial growth factor in patients with different severity of rhegmatogenous retinal detachment.*

Cytokines level was studied in patients with rhegmatogenous retinal detachment. In cases with PVR A tumor necrosis factor α level in vitreous was $39,98 \pm 21,95$ pg/ml and - increased with increasing proliferation in 2 and 3.5 times in grades B and C. In vitreal contents it increased in PVR B - 1.4 times and PVR C - 2.5. Concentration of VEGF in vitreous was also increasing by enhancing PVR. Grade A to B - 1.7 times, PVR A to C - 2 times. In vitreal contents VEGF level in PVR B group was higher by 31.7% and in PVR C by 150% than in PVR A group. A direct strong correlation was found between cytokines level in the vitreous and vitreous contents and degree of PVR.

Key words: rhegmatogenous retinal detachment, proliferative vitreoretinopathy, tumor necrosis factor α , vascular endothelial growth factor, vitreous, vitreous contents.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Петруня

УДК 616.61: 616.379 - 008.64: 612.112.94.015.2

МЕТОДОЛОГІЧНІ ТА КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ КЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ II ТИПУ

О.І. Ромаданова

Харківська медична академія післядипломної освіти

Вступ

Хронічна хвороба нирок (ХХН) залишається однією з актуальних проблем сучасної медицини, поряд з цукровим діабетом [7-10]. Останні ниркові реєстри свідчать про те, що від (20÷35)% усіх випадків термінальної ХХН пов'язані з потребою удосконалення лікувальної тактики, що у повній мірі відноситься і до хворих на цукровий діабет II типу (ЦД II) [7, 8, 16, 20]. Внаслідок руйнівного напруження у капілярній стінці пошкоджуються поверхні ендотеліоцитів [1, 17, 19]. Розрив гломерулярного бар'єру сприяє відкладанню білків плазми та ліпопротеїдів у мезангіальній ділянці, яке супроводжується зниженням кліренсом цих білків з розвитком гломерулосклерозу [3, 7-9]. Важливу роль у розвитку структурно-функціональних порушень нирок при ЦД відіграє активність циркулюючої та тканинної ренінаангіотензінної системи, а саме вазоактивний та вазопроліферативний фактор – ангіотензін II [7, 8, 13]. Зростає інтерес до ролі цитокінів у прогресуванні ХХН, особливо так званих прозапальних цитокінів, які активують метаболізм сполучної тканини, стимулюють проліферацію фібробластів, епітеліальних клітин, мезанхіального матриксу, включаються до ланок імунзапальних процесів у якості медіаторів [2, 3, 7, 8, 13-15].

Мета дослідження полягала в проведенні порівняльної оцінки ефективності корекції клітинних механізмів прогресування хронічної хвороби нирок при цукровому діабеті II типу.

Матеріали та методи дослідження

Оцінку ефективності корекції клітинних механізмів прогресування хронічної хвороби нирок при цукровому діабеті II типу виконано за результатами комплексного лікування 45 пацієнтів, розподілених на три групи: до першої ввійшли хворі з ХХН-I ($n_1=15$), до другої – з ХХН-II ($n_2=16$), до третьої – з ХХН-III ($n_3=14$). При комплексному