

УДК: 616.379–008.64:617.735–002+616–036.17:577.175.14:616–092

© Н. А. Ярошева, 2013 г.

## ЗНАЧЕНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Н. А. Ярошева

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского», кафедра офтальмологии (зав.кафедрой, д.мед.н., проф. Н.В. Иванова); Украина г. Симферополь, бул. Ленина 5/7; E-mail: nitus@yandex.ru

### VALUE OF PROINFLAMMATORY FACTORS IN ADVANCE OF DIABETIC RETINOPATHY

N. A. Yarosheva

#### SUMMARY

Research object was to define value of proinflammatory factors in advance of diabetic retinopathy (DR). 119 patients with DR were divided on research groups are examined. As a control group, 24 healthy donors served in the conforming age range. It is determined that an important pathogenetic component of DR advance is increase of systemic level of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ , deficiency of fibrinolytic ferments, increase of vWf level in blood plasma depending on a disease stage that promotes to aggravation of hypoxic processes in eye tissues and in its turn it is a factor of DR advance.

### ЗНАЧЕННЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ ФАКТОРІВ У ПРОГРЕССУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

Н. А. Ярошева

#### РЕЗЮМЕ

Метою дослідження було визначити значення прозапальних факторів у прогресуванні діабетичної ретинопатії. Обстежено 119 хворих з ДР розділених на групи дослідження. Контролем служили 24 здорових донора у відповідному віковому діапазоні. Встановлено, що важливим патогенетичної складовою прогресування ДР є наростання системного рівня прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ , дефіцит фібринолітичних ферментів збільшення рівня vWf в плазмі крові залежно від стадії захворювання, що сприяє збільшенню гіпоксичних процесів в тканинах ока і є, в свою чергу, фактором прогресування ДР.

**Ключевые слова:** диабетическая ретинопатия, цитокины, фибринолитическая активность сыворотки крови, слезная жидкость, фактор Виллибрандта, патогенез.

Диабетическая ретинопатия (ДР) – является основной причиной слепоты и слабovidения среди лиц трудоспособного возраста. В патогенезе ДР важную роль играют метаболические и гемодинамические нарушения. Метаболические аномалии приводят к повреждению мембран, нарушению проницаемости клеток, ишемии сетчатки. Элементы крови из патологически измененных сосудов попадают в сетчатку. В структурно измененной ишемизированной сетчатке образуется большое количество протромбиновых цитокинов и факторов роста, создаются благоприятные условия для неоваскуляризации [1, 3, 10].

Важной патогенетической составляющей прогрессирования ДР является дисбаланс в системе гемокоагуляция/фибринолиз (в сторону преобладания гиперкоагуляционных сдвигов) как системном, так и регионарном уровне (слезная жидкость, фибринолитическая и прокоагулянтная активность мононуклеарных лейкоцитов и клеток сосудистого эндотелия) [6].

Эндотелий участвует в воспалительных реакциях и аутоиммунных процессах, служит регулятором сократимости гладкомышечных клеток сосудов,

влияет на сосудистую проницаемость [9]. Известно, что эндотелий является «основным» источником выработки цитокинов и фактора Виллибрандта (vWf). Также vWf рассматривается в качестве лабораторного прогностического критерия – маркерного гена ДР [15].

Zaitseva N. и соавт. указывают, что цитокин-зависимый патогенез всех стадий ДР включает развитие на регионарном (ткани глаза) уровне гиперкоагуляции, дефицита эндогенного гепарина, снижение активности процессов фибринолиза и системы антитромбина с возможным развитием локальной (in loco morbi) формы хронического диссеминированного сосудистого свертывания крови [13]. Реализация иммунного ответа, помимо синтеза цитокинов, всегда сопровождается вовлечением гемостатических реакций и активацией фибринолиза [4, 5]. В научной литературе имеются не многочисленные сообщения, посвященные значению провоспалительных факторов в прогрессировании ДР. [13].

Цель: определить значение провоспалительных факторов в прогрессировании диабетической ретинопатии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили сыворотка крови и слезная жидкость. Обследовано 119 больных с ДР: 1-я группа - 14 больных с непролиферативной ДР (НДР), 2-я группа – 39 больных с препролиферативной ДР (ППДР), 3-ю группу составили 42 больных с пролиферативной ДР (ПДР). Контролем служили 24 здоровых донора в соответствующем возрастном диапазоне.

Концентрацию цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов (ООО «Цитокины» IL-1 $\beta$ , протеиновый контур – TNF- $\alpha$ , IL-4). Оценка результатов осуществляется фотометрическим методом.

Общую фибринолитическую активность (ОФА) (активаторную и плазминовую) крови

определяли по методике Astrup T., Mullertz S, выраженную в мм<sup>2</sup> [12].

Фибринолитическую активность (ФА) слезной жидкости определяли по методике Сомова Е.Е. и Бржевского В.В., выраженную в Ед/мл [11].

Активность vWf определяли по ристомидин-индуцированной агрегации формализированных тромбоцитов [8].

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ООО «Альфа», г. Донецк.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные исследования уровня IL-1 $\beta$ , IL-4 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ДР представлены на рис. 1.

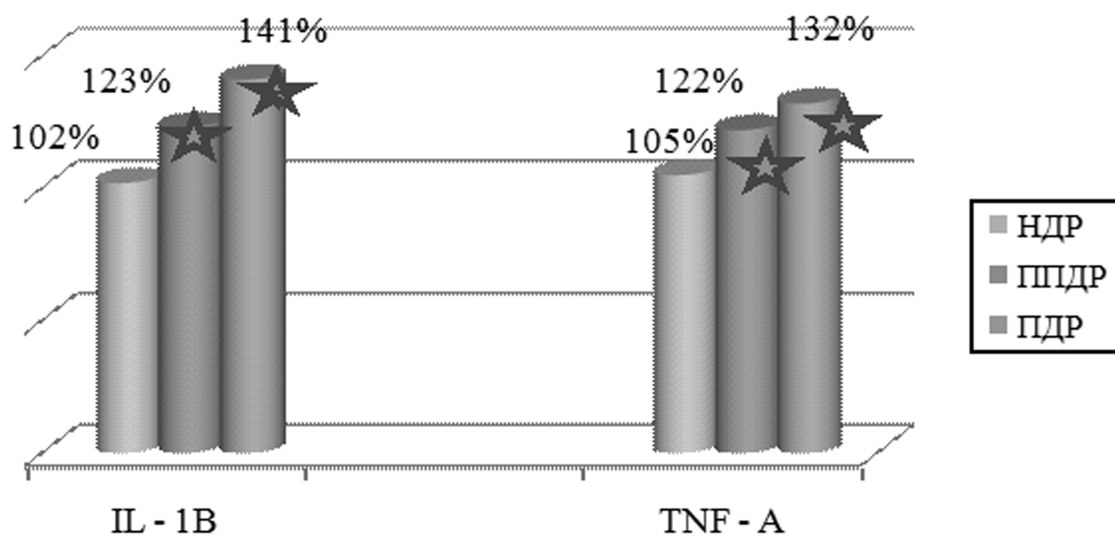


Рис. 1. Уровни цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных НДР, ППДР, ПДР, в % к норме, принятой за 100%.

Как видно из рис.1, у больных НДР уровень IL-1 $\beta$  в системном кровотоке не выходит за пределы диапазона его физиологических колебаний, а у больных ППДР и ПДР – повышен соответственно на 23,3% ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ) и 41,0% ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ), причем чем тяжелее стадия ДР, тем выше уровень IL-1 $\beta$ , то есть являясь провоспалительным цитокином способствует развитию воспаления у больных ППДР и ПДР. В свою очередь, такая зависимость свидетельствует о важной роли уровня IL-1 $\beta$  в прогрессировании ДР.

У больных НДР уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови не выходит за пределы диапазона его физиологических колебаний, а у больных ППДР и ПДР – повышен соответственно на 21,7% ( $p < 0,01$ ,  $p_1 < 0,001$ ) и на 32,2% ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ,  $p_2 < 0,05$ ), причем чем тяжелее стадия ДР, тем выше

уровень TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  является провоспалительным цитокином и увеличение его уровня способствует развитию воспаления у больных ППДР и ПДР и тоже свидетельствует о важной роли в прогрессировании ДР.

Результаты исследования гемокоагуляции у больных с ДР представлены на рис. 2.

ОФА сыворотки крови у лиц контрольной группы составляет  $73,18 \pm 2,62$  мм<sup>2</sup>, а у больных НДР  $68,71 \pm 1,81$  мм<sup>2</sup>, что не выходит за пределы физиологических колебаний показателя, в то время как, у больных ППДР и ПДР снижено соответственно на 24,2% ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ) и 43,8% ( $p$ ,  $p_1$  и  $p_2 < 0,001$ ) по сравнению с контролем (рис. 2), причем при ПДР показатель снижен почти в 2 раза по сравнению с ППДР, что подтверждает его зависимость от стадии ДР, то есть от тяжести заболевания.

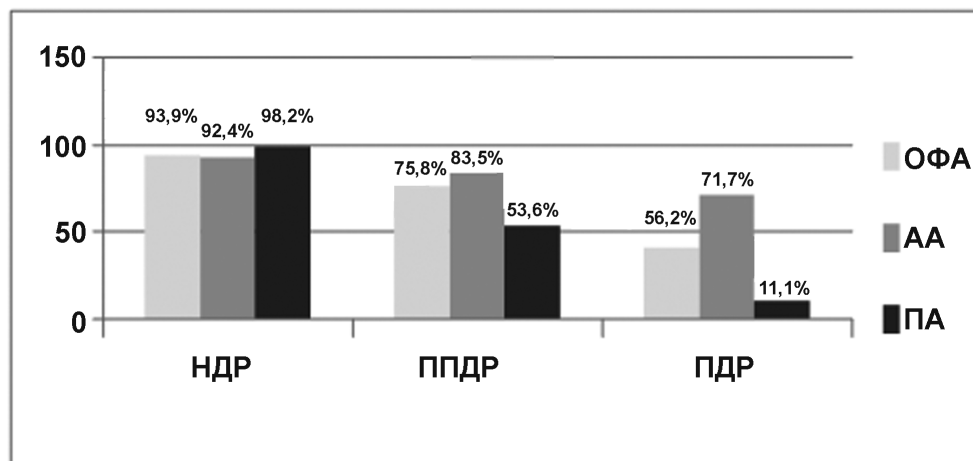


Рис. 2. Общая фибринолитическая активность, активаторная и плазминовая активность крови больных ДР.

АА крови больных НДР составляет  $50,24 \pm 1,82$  мм<sup>2</sup>, что существенно не отличается от соответствующего показателя в группе здоровых лиц, показатель равен  $54,39 \pm 2,56$  мм<sup>2</sup>, а у больных с ППДР и ПДР – АА снижена соответственно на 16,5 ( $p < 0,01$ ,  $p_1 < 0,05$ ) и 28,3 % ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ,  $p_1 < 0,01$ ) (рис. 2), причем при ПДР показатель снижен почти в 2 раза по сравнению с ППДР, что также свидетельствует о зависимости АА от тяжести или стадии заболевания ДР.

Анализ данных (рис. 2), характеризующих удельную ПА крови, свидетельствует, что у больных НДР ПА равен  $18,47 \pm 0,56$  мм<sup>2</sup>, что достоверно не отличается от соответствующего показателя здоровых лиц ( $18,79 \pm 0,80$  мм<sup>2</sup>), а у больных ППДР и с ПДР исследованный показатель достоверно снижен на 46,4 % ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ) и на 88,9 % ( $p$ ,  $p_1$  и  $p_2 < 0,001$ )

соответственно, причем при ПДР показатель снижен почти в 2 раза по сравнению с ППДР, подтверждая так же его зависимость от стадии ДР.

Результаты исследования регионарного (слезная жидкость) фибринолитического потенциала больных ДР представлены на рис.3.

Анализ цифрового материала, представленного на рис.3, свидетельствует, что у больных ППДР ФА слезной жидкости снижена на 24,5 % ( $p < 0,001$ ), а у больных ПДР – на 29,8 % ( $p < 0,001$ ), чем у больных с НДР. Причиной этого, на наш взгляд, могут являться ишемические процессы в тканях глаза и, как следствие этого, недостаточное поступление фибринолитических факторов из периферических зон кровотока.

Результаты исследования уровня активности vWf в плазме крови у больных 1-й, 2-й и 3-й групп представлены на рис. 4.

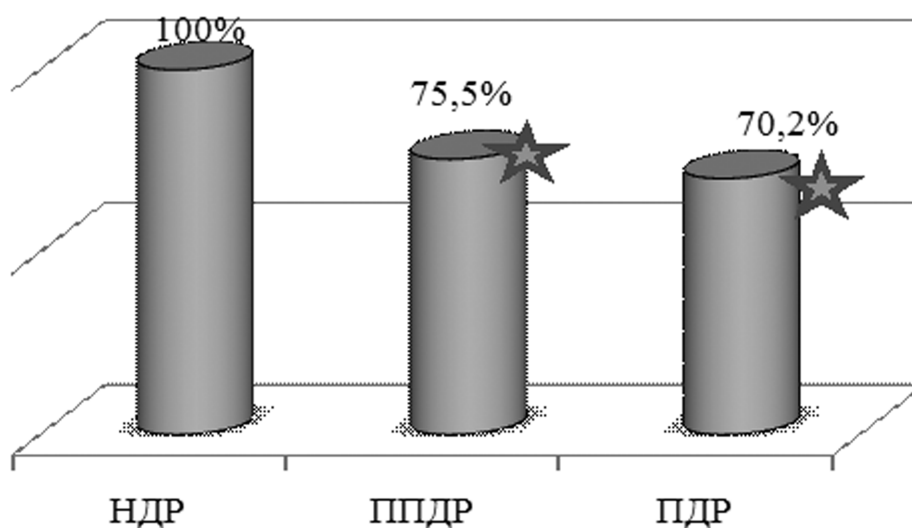


Рис. 3. Фибринолитическая активность (ФА) слезной жидкости больных НДР, ППДР, ПДР, в % к уровню показателя при НДР, принятой за 100%.

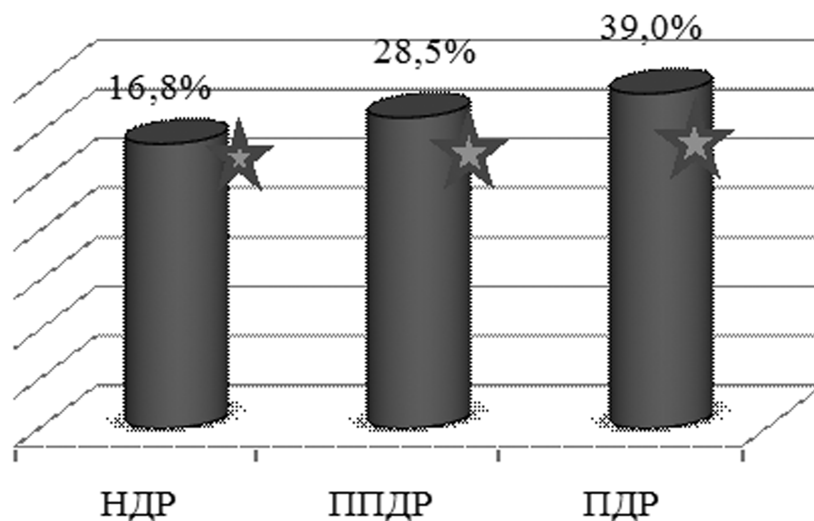


Рис. 4. Уровень активности vWf в плазме крови больных НДР, ППДР, ПДР, в %.

Как видно из рис.4, в сравнении с группой здоровых лиц у больных с ДР уровень активности vWf статистически значимо нарастает по мере нарастания степени тяжести заболевания: у больных 1-й группы с НДР показатель достоверно повышен на 16,8% (в % к норме принятой за 100%), у больных 2-й (ППДР) и 3-й групп (ПДР) – соответственно на 28,5% ( $p < 0,001$ ,  $p_1 < 0,01$ ) и на 39,0% ( $p$  и  $p_1 < 0,001$ ,  $p_2 < 0,01$ ).

Проведенные нами исследования подтверждают, что выполняя основную барьерную функцию, эндотелий сосудов принимает активное участие в регуляции: процессов сосудистой вазоконстрикции и вазодилатации, синтеза и активности факторов пролиферации сосудов, синтеза и активности факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов, а также воспалительных реакций (синтез противовоспалительных факторов, включая цитокины) [7, 14].

#### ВЫВОДЫ

1. Важной патогенетической составляющей прогрессирования ДР является нарастание системного уровня провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в зависимости от стадии заболевания, что создает неблагоприятный эндогенный фон у больных СД, что формирует условия для реализации на уровне сосудов в тканях различной локализации воспалительной «составляющей» ДР.

2. Течение ДР при ППДР и ПДР характеризуется статистически значимым нарастанием дефицита фибринолитических ферментов – удельной активаторной, плазминовой активности и, как следствие, – ОФА, причем чем тяжелее ДР, тем ниже уровень ОФА крови, больше дефицит фибринолитических ферментов, что является неблагоприятным эндогенным фоном для прогрессирования ДР и может быть причиной нарастания дисфункции эндотелия.

3. ФА слезной жидкости достоверно снижена только у больных ППДР и ПДР (на 24,5% и на 29,8% соответственно), но существенная зависимость от тяжести пролиферации не наблюдается, что, возможно, связано с ишемическими процессами в тканях глаза, усиливающимися в зависимости от стадии ДР и, как следствие этого, недостаточным поступлением фибринолитических факторов из периферических зон кровотока непосредственно в слезную жидкость.

4. У больных с ДР уровень vWf статистически значимо нарастает по мере нарастания степени тяжести заболевания, что подтверждает концепцию о том, что выполняя основную барьерную функцию, эндотелий сосудов принимает активное участие в регуляции: процессов сосудистой вазоконстрикции и вазодилатации, синтеза и активности факторов пролиферации сосудов, синтеза и активности факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов, а также воспалительных реакций (синтез про- и противовоспалительных факторов, включая цитокины).

Таким образом, в результате исследований установлено, что нарастание системного уровня провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  формирует условия для реализации на уровне сосудов в тканях различной локализации воспалительной «составляющей» ДР, что сопровождается выбросом медиаторов воспаления, экссудацией. В свою очередь, выявленный дефицит фибринолитических ферментов, зависящий от тяжести ДР, не позволяет в полной мере ограничить воспалительную «составляющую», и, как следствие, способствует нарастанию уровня vWf в зависимости от стадии заболевания, способствует усугублению гипоксических процессов в тканях глаза и является, в свою очередь, фактором прогрессирования ДР.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алифанова Т. А. Диабет и проблема инвалидности: тезисы 2-ой междунар. науч. конф. офтальмологов Причерноморья / Т. А. Алифанова, Н. Н. Кушнир. – Одесса, 2004. – С. 124.
2. Бувальцев В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний / В. И. Бувальцев ; Межд. мед. журнал. – 2001. – №3. – С. 202 – 208.
3. Горобенко Н. И. Молекулярные механизмы развития диабетических микроангиопатий и их фармакологическая коррекция / Н. И. Горобенко ; Вопросы биологической медицины и фармацевтической химии. – 2000. – № 1. – С. 17–23.
4. Иванова Н. В. Некоторые особенности патогенеза проникающих ранений глаза у мужчин с тестостероновой недостаточностью / Н. В. Иванова ; Офтальмологический журнал. – 2003. – №3. – С. 48–51.
5. Иванова Н. В. Эндокринная регуляция фибринолитической активности эпителия конъюнктивы у пациенток с травмой глаза и гипострогией / Н. В. Иванова ; Український часопис. – 2004. – №2 (40). – С. 131–133.
6. Иванова Н.В. Фибринолитическая активность сыворотки крови и слезной жидкости у больных с диабетической ретинопатией / Н.В. Иванова, Н.А. Ярошева ; Научно- практический журнал для фармацевтов и врачей «Рецепт». - 7 съезд офтальмологов Республики Беларусь, Минск. – 2007. - С. 290-295.
7. Иванова Н.В. Роль дисбаланса цитокинового гомеостаза в патогенезе диабетической ретинопатии / Н.В. Иванова, Н.А. Ярошева ; Офтальмологический журнал. – 2008. – № 2. – С. 11-14.
8. (Пат. 35204 Украина, А МПК 6 G 01N33/00. опубл. 15.03.01, Бюл. № 2. – 12 с.).
9. Применение флавоноидных антиоксидантов в комплексном лечении больных с периферическими витреохориоретинальными дистрофиями и дистрофической отслойкой сетчатки / М. И. Каражаева, Е. О. Саксонова, Г. И. Клебанов [и др.] ; Вестник офтальмологии. – 2004. – № 4. – С. 14–17.
10. Скрипник Р. Л. Роль сосудисто-эндотелиального фактора роста в патогенезе диабетической ретинопатии : матеріали наук.-практ. конф. [«Хірургічне лікування та реабілітація хворих з офтальмологічною патологією»] / Р. Л. Скрипник. – К., 2004. – С. 212–214.
11. Сомов Е.Е. Коагуляционная и фибринолитическая активность слезной жидкости у здоровых людей и при острых нарушениях кровообращения в глазу / Е.Е. Сомов, В.В. Бржецкий ; Вест. офтальмологии. – 1992. – №3. – С.38-41.
12. Astrup T. The fibrin plate methods for estimation fibrinolytic activity / T. Astrup, S. Mullertz; Arch. Bioch. Bioph. – 1972. – Vol.40. – P.346–351.
13. Disorders in the immune regulation and hemostasis as factors triggering the proliferative retinopathy in diabetes mellitus / N. S. Zaitseva, L. M. Balashova, L. E. Teplinskaia [et al.] ; Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk. – 2003. – Vol. 5, N.1. – P. 28–32.
14. Furchgott R. E. The obligatory role of endothelial cells in the realization of arterial smooth muscles by acetylcholine / R. E. Furchgott, J. V. Zavadski ; Nature. – 1999.– Vol. 288. – P. 373 – 376.
15. Role of vasoactive factors in the pathogenesis of early changes in diabetic retinopathy / S.Chakrabarti, M.Cukiernik, D.Hileeto [et al.] ; Diabetes Metab. Res. Rev. - 2000. – Vol.16, N.6. – P.393-407.