

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

А.В. Спектор

*Луганский государственный медицинский университет*

### Введение

Грозным осложнением сахарного диабета (СД) со стороны органа зрения является диабетическая ретинопатия (ДР), - одна из основных причин необратимой слепоты среди населения всего мира. Так как, по данным ВОЗ распространенность СД продолжает расти и составляет уже в среднем от 1,5 до 4%, число больных ДР также характеризуется неуклонным ростом [1,7,15]. Ранее показана существенная роль аутоиммунных реакций, иммунных и метаболических нарушений в патогенезе ДР, возникающих в результате расстройства микрогемодинамики и целостности гематоретинального барьера [2,3,6,8,9]. Одной из основных причин инвалидизации больных является несвоевременная диагностика и лечение ДР. При этом до настоящего времени не установлены критерии прогнозирования течения ДР у больных, что затрудняет проведение адекватной патогенетически ориентированной коррекции выявленных нарушений, а все существующие критерии базируются только на клинической картине заболевания [4,5,13].

**Целью** данной работы явилась разработка иммунологических критериев прогрессирования течения диабетической ретинопатии у больных.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Работа выполнена в соответствии с основным планом НИР Луганского государственного медицинского университета и является фрагментом темы НИР "Клініко-патогенетична характеристика хворих на діабетичну ретинопатію та оптимізація засобів її лікування" (№ госрегистрации 0107U001039).

### Материал и методы исследования

Обследовано 176 больных (352 глаза) с двусторонней формой ДР в возрасте от 16 до 74 лет. Из них мужчин было 73 (41,5%), женщин - 103 (58,5%). Все больные были разделены на группы согласно классификации ДР Kohner - Porta (1990) [12,14]. Непролиферативная ДР (НДР) выявлена у 109 больных - 218 глаз, препролиферативная ДР (ППДР) у 46 больных - 92 глаза, пролиферативная ДР (ПДР) у 21 больного - 42 глаза. Больным проводилось традиционное офтальмологическое обследование: исследование остроты и поля зрения, изучение площади слепого пятна с помощью кампиметрии. Изучались электрофизиологические показатели органа зрения: порог электрической чувствительности по фосфену (ПЭЧФ), критическая частота слияния мельканий (КЧСМ), критическая частота исчезновения мельканий по фосфену (КЧИМФ). Объективное состояние органа зрения оценивали по данным биомикроскопии, прямой и обратной офтальмоскопии, фотографий глазного дна, флюоресцентной ангиографии полученных с помощью фундус-камеры Торсон. Лабораторные методы исследования включали исследование содержания ЦИК в слезной жидкости путем преципитации в растворах полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 6000 дальтон [10]. Молекулярный состав ЦИК изучали методом дифференцированной преципитации в 2%, 3,5% и 6% растворах ПЭГ [11]. Определение содержания в слезе цитокинов ФНО $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-4 проводили на лабораторном оборудовании Sanofi Diagnostic Pasteur (Франция) с помощью сертифицированных в Украине тест систем производства "ProCon" (Протеиновый контур, СПб, Россия). Все больные находились под наблюдением эндокринолога и получали адекватную гипогликемическую и общую терапию. Контрольную группу для выработки показателей нормы составили 150 практически здоровых лиц - разовых донора областной станции переливания крови, проживающих в том же регионе, сопоставимых с группой обследованных больных по возрасту и полу.

### Полученные результаты и их обсуждение

В клиническом плане у всех пациентов НДР было выявлено нарушение калибра микрососудов, четкообразность и изви-

тость вен, микроаневризмы, очаги мягких экссудатов в макуле и паравазально; точечные геморрагии по ходу сосудов на периферии и в макулярной области. Со стороны функциональных и электрофизиологических показателей: острота зрения составила в среднем  $0,78 \pm 0,006$  единиц (ед.) ( $P < 0,05$ ); поле зрения  $502 \pm 0,3^\circ$  ( $P < 0,05$ ), КЧСМ -  $31,4 \pm 0,3$  Гц ( $P < 0,01$ ), ПЭЧФ -  $146,2 \pm 5,6$  мкА ( $P < 0,05$ ). У больных ППДР кроме органических поражений сосудов на глазном дне определялись зоны отека сетчатки, твердые экссудаты, преретинальные геморрагии. Острота зрения снижалась в среднем до  $0,32 \pm 0,007$  ед. ( $P < 0,05$ ), поле зрения сужалась до  $373,6 \pm 9,2^\circ$  ( $P < 0,01$ ), КЧСМ до  $26,8 \pm 0,5$  Гц ( $P < 0,05$ ), ПЭЧФ повышался до  $186,2 \pm 4,2$  мкА ( $P < 0,01$ ). У больных ПДР при объективном осмотре отмечались рубеоз радужки, зоны неоваскуляризации, глиоза и фиброза, частичные кровоизлияния в стекловидное тело, тракционная отслойка сетчатки. Функциональные и электрофизиологические показатели были наиболее снижены: острота зрения -  $0,07 \pm 0,003$  ед. ( $P < 0,01$ ), поле зрения -  $232,4 \pm 4,1^\circ$  ( $P < 0,05$ ), КЧСМ -  $21,5 \pm 1,6$  Гц ( $P < 0,05$ ), ПЭЧФ -  $293,8 \pm 5,5$  мкА ( $P < 0,05$ ) (табл.1).

Таблица 1

**Функциональные и электрофизиологические показатели органа зрения у больных различными формами ДР (M±m)**

Тесты	Норма n=100	НДР (n=218)	ППДР (n=92)	ПДР (n=42)
Острота зрения, ед.	$1,0 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,006^*$	$0,32 \pm 0,007^*$	$0,07 \pm 0,003^{**}$
Поле зрения, °	$558 \pm 4,7$	$502 \pm 0,3^*$	$373,6 \pm 9,2^{**}$	$232,4 \pm 4,1^*$
ПЭЧФ, мкА	$53,3 \pm 1,2$	$146,2 \pm 5,6^*$	$186,2 \pm 4,2^{**}$	$293,8 \pm 5,5^*$
КЧСМ, Гц	$43,5 \pm 0,6$	$31,4 \pm 0,3^{**}$	$26,8 \pm 0,5^*$	$21,5 \pm 1,6^*$

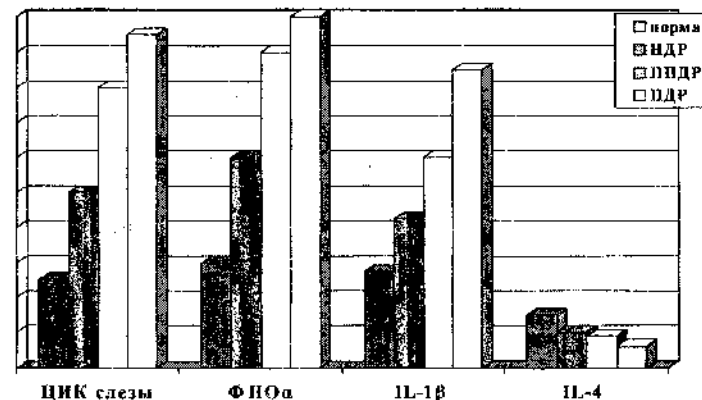
**Примечание.** Достоверность различий показателя по отношению к норме: \* - при  $P < 0,05$ ; \*\* - при  $P < 0,01$ .

При изучении иммунологических показателей концентрация ЦИК слезы у больных НДР была выше нормы в среднем в 3 раза и равнялась  $3,2 \pm 0,3$  г/л ( $P < 0,05$ ). При этом наблюдалось максимальное увеличение концентрации средне- и мелкомолекулярных ЦИК - в 2,4 и 1,9 раз соответственно.

У больных ППДР концентрация ЦИК превышала норму в

3,8 раза, их среднемoleкулярной фракции в 2,6 раза, а мелкомолекулярной - в 2,3 раза по сравнению с нормой.

Наиболее выраженные изменения уровня ЦИК слезы выявлены у больных ПДР, концентрация ЦИК превышала норму в 4,4 раза и составила  $4,4 \pm 0,3$  г/л ( $P < 0,05$ ), среднемoleкулярных ЦИК в 3,2 раза ( $0,99 \pm 0,3$  г/л), ( $P < 0,01$ ), а мелкомолекулярных в 2,7 раза ( $0,7 \pm 0,1$  г/л), ( $P < 0,05$ ) (рис. 1).



**Рис.1.** Показатели местного иммунитета у больных различными формами ДР.

Со стороны местного цитокинового профиля у больных НДР содержание провоспалительных цитокинов ФНОα и IL-1β возрастало до  $194,8 \pm 2,1$  пг/мл ( $P < 0,05$ ), и  $176,3 \pm 1,6$  пг/мл ( $P < 0,05$ ) соответственно, а концентрация противовоспалительного цитокина IL-4 снижалась до  $25,4 \pm 1,3$  пг/мл ( $P < 0,01$ ). Концентрация ФНОα у больных ППДР увеличилась в 2 раза и составила  $235,8 \pm 2,5$  пг/мл ( $P < 0,01$ ), а IL-1β в 1,8 раза, составив  $189,2 \pm 3,1$  пг/мл ( $P < 0,05$ ), на фоне этого происходило снижение уровня IL-4 в 1,6 раза, - до  $21,8 \pm 2,4$  пг/мл ( $P < 0,05$ ). Максимальное увеличение концентрации провоспалительных цитокинов и снижение уровня противовоспалительного IL-4 выявлено у больных ПДР -  $281 \pm 3,3$  пг/мл ( $P < 0,01$ ),  $232,4$  пг/мл ( $P < 0,01$ ) и  $16,8$  пг/мл ( $P < 0,05$ ) соответственно (рис.1).

Таким образом, у больных ДР выявлены клинические нарушения, характерные для каждой стадии заболевания, а также соответствующие иммунные нарушения: существенное нарушение

ние концентрации ЦИК в слезе, преимущественно за счет средне- и низкомолекулярных фракций, цитокинового профиля слезы в виде повышения концентрации провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) и снижения уровня противовоспалительного цитокина IL-4. При этом степень выраженности изменений соответствовала тяжести клинической картины заболевания. Полученные данные позволяют контролировать и прогнозировать прогрессирование патологического процесса в сетчатке глаза для проведения своевременного лечения.

С помощью многофакторного математического анализа установлены критерии прогрессирования течения ДР, а именно повышение уровня ЦИК слезы свыше 3,5 г/л и концентрации ФНО $\alpha$  свыше 212,4 пг/мл являются неблагоприятными прогностическими признаками в плане прогрессирования патологического процесса в сетчатке и развития пролиферации.

#### Выводы

1. У больных ДР выявлены клинические нарушения, характерные для соответствующей стадии заболевания.

2. Увеличение концентрации ЦИК и провоспалительных цитокинов слезы у больных ДР соответствовало клинической картине заболевания и возрастало параллельно тяжести поражения сетчатки глаза.

3. Наибольшие изменения уровня ЦИК и цитокинового профиля слезы выявлены у больных ПДР.

4. Повышение уровня ЦИК слезы свыше 3,5 г/л и концентрации ФНО $\alpha$  свыше 212,4 пг/мл являются неблагоприятными прогностическими признаками в плане прогрессирования патологического процесса в сетчатке и развития пролиферации.

#### Литература

1. Бездетко П. А., Горбачева Е. В. Структура заболеваемости сахарным диабетом и диабетической ретинопатией участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, проживающих в г. Харькове и области // *Офтальмологический журнал*. - 2008. - № 5. - С. 8-11.

2. Десяренко Т. В., Кашинцева Л. Т., Байбарза А. В. Особенности иммунологического статуса больных при начальных диабетических изменениях глазного дна и их

прогностическое значение // *Офтальмологический журнал*. - 1994. - № 3. - С. 145-148.

3. Жабоедов Г.Д., Р.Л. Скрипник, М.В. Сидорова Иммунопатологические процессы в сетчатке при развитии диабетической ретинопатии // *Вестник офтальмологии*. - 2000. - № 6. - С. 36-39.

4. Краснов М.М., Сдобникова С.В., Федоров А.А. и соавт. Заднегиалидная мембрана как структурная основа роста новообразованной ткани при пролиферативной диабетической ретинопатии // *Вестник офтальмологии*. - 1998. - Т. 114, № 3. - С. 16-20.

5. Пасечникова Н.В., Науменко В.А., Зборовская А.В. и соавт. Состояние гематоретинального барьера при диабетической ретинопатии по данным флюорометрии // *Офтальмологический журнал*. - 2008. - №5. - С. 4-7.

6. Петруня А. М., Спектор А. В. Изменение уровня цитокинов сыворотки крови у больных диабетической ретинопатией // *Український медичний альманах*. - 2006. - Т. 9, № 5. - С. 103-105.

7. Сидорова М. В. *Діабетична ретинопатія. Патогенез, клініка, лікування*. - Киев: Аверс, 2006. - 156 с.

8. Слепова О.С., Зайцева Н.С., Егорова Э.В. и др. Изучение аутоиммунных реакций глаза в условиях хирургической травмы // *Офтальмохирургия*. - 1992. - № 1. - С. 64 - 69.

9. Слепова О. С. Герасименко В. Л., Захарова Г. Ю. и соавт. Сравнительное исследование роли цитокинов при разных формах глазных заболеваний. Сообщение 2. Диабетическая ретинопатия // *Вестник офтальмологии*. - 2001. - Т. 117, № 3. - С. 35-37.

10. Фролов В.М., Рычнев В.Е., Бала М.А. Исследование циркулирующих иммунных комплексов: диагностическое и прогностическое значение // *Лабораторное дело*. - 1986. - № 3. - С. 159 - 161.

11. Фролов В. М., Бойченко П. К., Пересадин Н. А. Диагностическое и прогностическое значение уровня циркулирующих иммунных комплексов у больных // *Врачебное дело*. - 1990. - № 6. - С. 116-118.

12. Richard G. *Fluorescein and ICG angiography*. - Thieme Medical Publishers, Inc., New York, 1998. - 369 p.

13. Jousseaume A. M., Kirchhof B., Gottstein C. *Molecular mechanisms of vasculogenesis and angiogenesis. What regulates vascular growth* // *Ophthalmology*. - 2003. - Vol. 100, № 4. - P. 284-291.

14. Porta M., Kohner E.M. *Screening for diabetic retinopathy in Europe* // *Diabetic Med.* - 1991. - Vol. 8. - P. 197 - 198.

15. Wilkinson C.P., Ferris F.L., Klein R.E. et al. *The Global Diabetic Retinopathy Project Group: Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales* // *Ophthalmology*. - 2003. - Vol. 110. - P. 1677-1682.

#### Резюме

**Спектор А.В.** *Иммунологические критерии прогрессирования течения диабетической ретинопатии.*

Обследовано 176 больных различными формами ДР. С помощью многофакторного математического анализа установлены критерии прогрессирования течения ДР, а именно повышение уровня ЦИК слезы свыше 3,5 г/л и концентрации ФНО $\alpha$  свыше 212,4 пг/мл являются неблагоприятными прогностическими признаками в плане прогрессирования патологического процесса в сетчатке и развития пролиферации.

**Ключевые слова:** диабетическая ретинопатия, циркулирующие иммунные комплексы, цитокины.

#### Резюме

**Спектор О. В.** *Имунологичні критерії прогнозування течії діабетичної ретинопатії.*

Обстежено 176 хворих на різні форми ДР. За допомогою багатфакторного математичного аналізу встановлені критерії прогресування течії ДР, а саме зростання рівню ЦИК слези понад 3,5 г/л та концентрації ФНО $\alpha$  понад 212,4 пг/мл є несприятливими прогностичними показниками в плані прогресування патологічного процесу в сітківці та розвитку проліферації.

**Ключові слова:** діабетична ретинопатія, циркулюючі імунні комплекси, цитокини.

#### Summary

**Spektor A.V.** *Immunological criteria of progressing of current diabetic retinopathy.*

176 patients with different forms of diabetic retinopathy are examined. By the multifactorial mathematical analysis were found criteria of progressing current of DR, namely increase of level of the CIC of tear from above 3,5 g/l and concentration of TNF $\alpha$  over 212,4 pg/ml are adverse bed signs in respect of progressing of pathological process in a retina and developments of proliferation.

**Key words:** diabetic retinopathy, circulatory immune complexes, cytokines.

## ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ТА ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ SNP -1082 G $\rightarrow$ A ПРОМОТОРНОЇ ДІЛЯНКИ ГЕНА ІЛ-10 ПРИ НАВИКОВОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ

О.І.Терпиляк, Д.В.Заставна, Я.Ю.Заганяч,  
Н.В. Гельнер, М.Я.Тиркус

Інститут спадкової патології АМН України (Львів)

### Вступ

Причини непліддя - різноманітні і до кінця не з'ясовані, серед яких найбільш загадковою є "поведінка" імунітету. Разом з тим, цілий ряд авторів вважають, що навикове невиношування вагітності (2-а і більше мимовільні викидні на ранніх термінах вагітності в анамнезі) має переважно імунну етіологію і базується на зсуві функціонального балансу Т-лімфоцитів-хелперів в бік клітин 1-го типу [1, 2, 3, 4, 5]. Відомо також, що реалізація схильності організму до того, чи іншого захворювання відбувається при виключній участі генів імунорегуляторних структур, найбільш визначеними серед яких є цитокини. Особливий інтерес викликає протизапальний цитокін інтерлейкін-10 (ІЛ-10). Він є одним з найважливіших регуляторних цитокінів, який в значній мірі визначає напрямок імунної відповіді, під впливом ІЛ-10 пригнічується клітинний імунітет, який регулюється Т-хелперами 1-го типу і стимулюється гуморальна відповідь з участю Т-хелперів 2-го типу, що власне і є необхідною умовою нормального протікання вагітності [5, 6]. Важливим моментом є реалізація сигнального ефекту ІЛ-10 через блокування відповідного механізму, ключовим білком якого є NF $\kappa$ B - універсальний білок ініціалізації експресії генів цитокінів. ІЛ-10 пригнічує активацію цього механізму шляхом інгібування І $\kappa$ B ядерного фактору [7].

Промоторна ділянка гена ІЛ-10 (пІЛ-10) містить ряд крап-