

**УРОВЕНЬ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- α И
ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ
У БОЛЬНЫХ РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКОЙ СЕТЧАТКИ
С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ
ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ**

Г.В. Левицкая

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

Введение

Патология глазного дна (дистрофические заболевания, отслойка сетчатки, ретинопатии при системных заболеваниях и т.п.) на протяжении пяти последних лет стабильно остается в тройке лидирующих инвалидизирующих офтальмопатологий, значимый вес которой в структуре первичной инвалидности колеблется в пределах 16 - 19%. Развитие этой группы заболеваний обусловлено сосудистыми дисрегуляторными, метаболическими, нейротрофическими повреждениями хориоидеи и сетчатки, что приводит к формированию деструктивных изменений [1].

Внутриглазная пролиферация является общим типом реакции тканей глаза на повреждение любой этиологии, характеризующейся ростом фиброзной или фиброваскулярной ткани в стекловидном теле, на обеих поверхностях сетчатки (чаще внутренней) и приводящей, в большинстве случаев, к необратимым последствиям. Для этого процесса характерны признаки хронического воспаления, центральной фигурой которого являются мононуклеары и фибробласты [6]. На сегодняшний день получено достаточно доказательств участия цитокинов в патогенезе пролиферативных витреоретинальных заболеваний.

Известно, что пигментный эпителий в условиях нарушенной трофики высвобождает факторы роста эндотелия сосудов, стимулирующие ангиогенез [2]. Исследована экспрессия фактора роста гепатоцитов и фактора роста соединительной ткани в стекловидном теле при пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) и показано, что повреждение сетчатки вызывается воспалением в ответ на увеличение уровня фактора роста гепатоцитов, вызванной формированием групп из мигрирующих клеток пигментного

эпителия. Эти клетки контактируют со стекловидным телом, которое содержит фактор роста соединительной ткани. Трансформирующий фактор роста активизируется, усиливая экспрессию фактора роста соединительной ткани, клетки пигментного эпителия формируют фиброзную мембрану с низким содержанием клеток. Трансформирующий фактор роста является основным цитокином, стимулирующим тканевый фиброз. Его уровень повышается в стекловидном теле при ПВР, коррелируя со степенью выраженности процесса [7, 11]. По мнению авторов факторы роста гепатоцитов и фактор роста соединительной ткани могут играть критическую роль как при развитии ПВР у человека, так и в культуре клеток пигментного эпителия *in vitro* и в условиях моделирования ПВР на животных [9].

У пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией в стекловидном теле и сыворотке определены ИЛ-1 β и ФНО- α , концентрация которых в стекловидном теле значительно превышала показатели в сыворотке и контроле. Увеличение уровня этих цитокинов, по мнению авторов, играет значимую роль в патогенезе заболевания, способствуя аномальной пролиферации клеток и неоваскуляризации [8].

Интерлейкины и факторы роста играют важную роль в патогенезе ПВР при регматогенной отслойке сетчатки (РОС). У пациентов РОС с без и с ПВР был выявлен полиморфизм в распределении генотипа трансформирующего фактора роста. Установленная авторами связь между генетическим профилем этого фактора и развитием ПВР предполагает возможность наличия таковой и с другими клиническими признаками заболеваниями, что требует дальнейших исследований [12].

У пациентов с РОС в аспиратах стекловидного тела, полученных во время витрэктомии, были определены ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , интерферон- γ , трансформирующий фактор роста: ИЛ-6 и ФНО- α были выявлены чаще в случаях ПВР [10].

С целью выяснения роли клеток стекловидного тела в процессах пролиферации была определена экспрессия м-РНК фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС) и интерлейкина (ИЛ)-6. Показано, что клетки, полученные из стекловидного тела, стимулируют ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и фактор некроза опухоли α (ФНО- α), а также продуцируют ФРЭС и ИЛ-6, которые способствуют пролиферации клеток эндотелия сосудов [13]. Однако, в литературе не представлены данные об изменениях цитокинового профиля, развивающихся в жидко-

стях и тканях глаза после оперативного вмешательства, в частности, по поводу отслойки сетчатки. Поэтому изучение исходного цитокинового уровня и изменения его профиля в послеоперационном периоде у больных РОС, в т.ч с различными степенями ПВР, представляет большой интерес для получения более полного представления о патогенезе заболевания и разработки новых методов его лечения.

Цель исследования - выявить особенности экспрессии ФНО- α и ФРЭС в стекловидном теле и витреальной жидкости у больных РОС с разной степенью пролиферативной витреоретинопатии.

Материал и методы исследования

У 79 больных РОС (79 глаз), среди которых 36 мужчин, 43 – женщины, проведено стандартное офтальмологическое обследование. На основании данных о степени пролиферативной витреоретинопатии все обследуемые были разделены на три группы – со степенью ПВР А, В и С. По степени пролиферации пациенты были распределены следующим образом: легкая степень А и В была выявлена у 15 и 50 человек, что составляет 19,0 и 63,3% соответственно, в 17,7% случаев (14 человек) была определена степень пролиферации С. В стекловидном теле (27 образцов) и витреальном содержимом (60 образцов) был определен уровень ФНО- α и ФРЭС иммуноферментным методом. В целом, исследовано 87 образцов, что на 8 больше, чем число обследуемых пациентов, т.к. в этих случаях была возможность получить и стекловидное тело, и витреальную жидкость.

Забор стекловидного тела проводили во время витрэктомии, витреального содержимого - в послеоперационном периоде во время проведения дополнительной заместительной газовой тампонады с целью увеличения объема газового пузыря в витреальной полости для полноценного блокирования нижних разрывов сетчатки [4].

Анализ уровня цитокинов в стекловидном теле и витреальном содержимом проводили в зависимости от степени ПВР.

При статистической обработке результатов использовали непараметрический критерий Крускала-Уоллиса - для одномоментного сравнения более, чем двух групп и критерий ранговой корреляции Спирмена - для определения корреляционной связи [3].

Полученные результаты и их обсуждение

Анализируя уровень исследуемых цитокинов в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных РОС в зависимости от степени ПВР нами было выявлено следующее.

Как было показано нами ранее [5] уровень ФНО- α ($M \pm SD$) в стекловидном теле составляет $89,28 \pm 43,54$ пг/мл, а в витреальном содержимом – $129,3 \pm 61,03$ пг/мл.

Учитывая данные относительно степени пролиферативного процесса, осложняющего течение регматогенной отслойки сетчатки, нами было показано, что при ПВР в стадии А (минимальные проявления пролиферации) уровень ФНО- α составляет $39,98 \pm 21,95$ пг/мл. По мере увеличения степени пролиферации уровень ФНО- α повышается до $81,19 \pm 23,01$ пг/мл и пг/мл при ПВР степени В и С соответственно (рис. 1). Различия уровней ФНО- α в стекловидном теле у пациентов РОС с разной степенью ПВР являются достоверными по критерию Крускала-Уоллиса ($\chi^2=12,58$, $df=2$, $p=0,0019$).

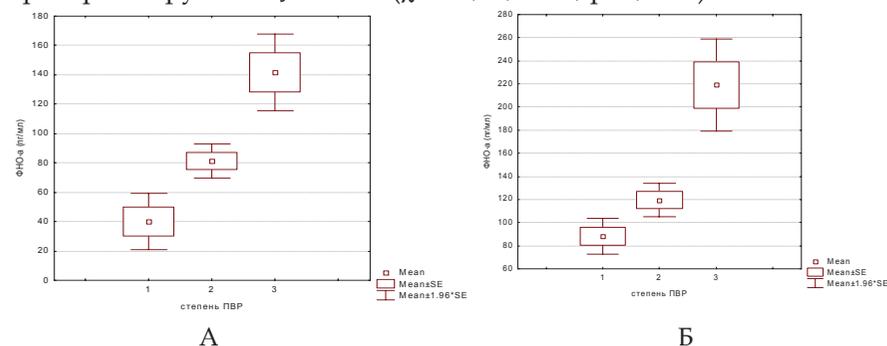


Рис. 1. Уровень ФНО- α в стекловидном теле (А) и витреальном содержимом (Б) у больных регматогенной отслойкой сетчатки с разной степенью ПВР.

Примечание. 1. – ПВР степени А, 2. – ПВР степени В, 3. – ПВР степени С.

Аналогичная направленность выявлена и в витреальном содержимом, однако эти изменения менее выражены. Содержание ФНО- α при ПВР степени А составляет $88,20 \pm 24,50$ пг/мл, при степени В увеличивается на 38,2%, а при тяжелой степени – в 2,5 раза. Различия уровней ФНО- α в витреальном содержимом у пациентов РОС с разной степенью ПВР также являются достоверными по критерию Крускала-Уоллиса ($\chi^2=12,82$, $df=2$, $p=0,0016$).

Уровень ФРЭС, как было показано ранее, в стекловидном теле составляет $929,0 \pm 351,8$ пг/мл, а в витреальном содержимом – $1388,1 \pm 401,5$ пг/мл, что выше соответствующих данных, характеризующих содержание ФНО- α в исследуемом материале.

Для ФРЭС также характерно увеличение концентрации по мере усиления ПВР. У пациентов со степенью ПВР А этот показатель составляет

560,3±257,8 пг/мл, при стадии В увеличивается в 1,7 раза, при стадии С – в 2 раза (рис. 2). Данные статистической обработки свидетельствуют о том, что различия уровней ФРЭС в стекловидном теле у пациентов с ПВР разной степени выраженности являются достоверными по критерию Крускала-Уоллиса ($\chi^2=12,58$, $df=2$, $p=0,0019$).

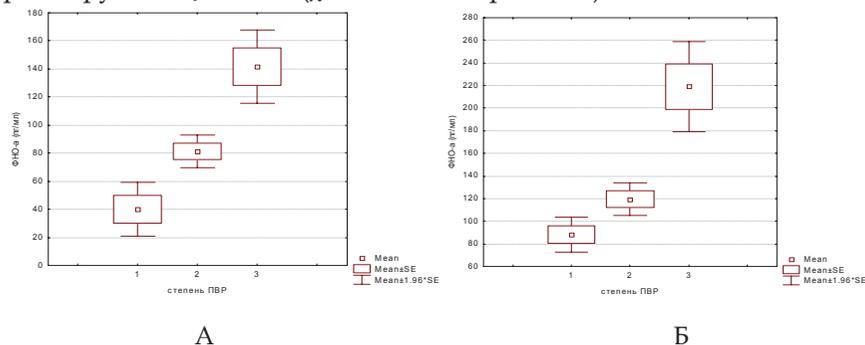


Рис. 2. Уровень ФРЭС в стекловидном теле (А) и витреальном содержимом (Б) у больных регматогенной отслойкой сетчатки с разной степенью ПВР.
Примечание. 1. – ПВР степени А, 2. – ПВР степени В, 3. – ПВР степени С.

В витреальном содержимом различия между уровнем ФРЭС в группах с ПВР со стадиями А и В составляют 31,7% (1069,6±263,2 пг/мл и 1408,3±399,4 пг/мл соответственно). У пациентов с ПВР стадии С уровень ФРЭС увеличен в 1,5 раза. Результаты статистического анализа показали, что различия уровней ФРЭС в витреальном содержимом у пациентов с ПВР разной степени выраженности являются достоверными по критерию Крускала-Уоллиса ($\chi^2=9,40$, $df=2$, $p=0,0091$).

Определение корреляционной связи между уровнем исследуемых цитокинов в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных с РОС и степенью ПВР, как одного из основных факторов, характеризующих тяжесть патологического процесса, выявило наличие прямой сильной корреляционной связи во всех случаях (таблица).

Таблица

Ранговая корреляционная связь между уровнем цитокинов и степенью ПВР у больных регматогенной отслойкой сетчатки

Исследуемые цитокины	Стекловидное тело			Витреальное содержимое		
	n	r Спирмена	p	n	r Спирмена	p
ФНО-α	27	0,812008	0,000000	60	0,534013	0,000011
ФРЭС	27	0,606626	0,000795	60	0,397181	0,001677

В целом, полученные результаты свидетельствуют о целесообразности определения уровня вышеуказанных цитокинов в качестве дополнительного объективного критерия степени тяжести патологического процесса и согласуются с данными других авторов [9,10,12].

Выводы

Таким образом, в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных с РОС выявлено существенное изменение цитокинового профиля в виде повышения концентрации ФРЭС и ФНО-α в зависимости от степени ПВР, что соответствовало нарастанию тяжести клинической картины заболевания.

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 (23-24 травня 2013 р., Одеса). - Одеса, 2013. - С. 302.
2. Будзинская М.В. Система новых подходов к диагностике и лечению субретинальной неоваскулярной мембраны: автореф. дис. ... докт. мед. наук: спец. 14.01.07 „Глазные болезни» / М.В. Будзинская. – М., 2011. - 44 с.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. - М.: Практика, 1998. - 459 с.
4. Левицька Г.В. Спосіб комплексного втручання при лікуванні регматогенного відшарування сітківки з розривами сітківки будь-якої локалізації - Пат. України на корисну модель № 62269, опубл. 25.08.2011.
5. Левицькая Г.В. Уровень фактора некроза опухоли-α и фактора роста эндотелия сосудов у больных с разной степенью тяжести отслойки сетчатки / Г.В. Левицькая // Проблемы екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: збірник наукових праць. - Київ; Луганськ, 2013. - Випуск 3 (117). - С. 64-72.
6. Хороших Ю.И. Фундаментальные аспекты патогенеза внутриглазной пролиферации / Ю.И. Хороших, О.И. Кривошеина, И.В. Запускалов // Материалы 10 научно-практической конференции „Современные технологии лечения витреоретинальной патологии - 2012”, проводимой в рамках празднования 85-летия со дня рождения академика С.Н. Федорова (22-23 марта 2012 г., Москва). - М., 2012. - С. 193-195.
7. Bornstein P. Thrombospondins as extracellular modulators of cell function / P. Bornstein // J. Clin. Invest. - 2001. - Vol. 107. - P. 929-934.
8. Determination of vitreous interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis factor (TNF) levels in proliferative diabetic retinopathy / N. Demircan, B.G. Saffran, M. Soyulu [et al.] // Eye. - 2006. - Vol. 20. - P. 1366-1369.

9. Hinton D.R. Novel growth factors involved in the pathogenesis of proliferative vitreoretinopathy / D.R. Hinton, S. He, S.J. Ryan [et al.] // *Eye*. - 2002. - Vol. 16. - P. 422-428.

10. Limb G.A. Cytokines in proliferative vitreoretinopathy / G.A. Limb, B.C. Little, A. Meager [et al.] // *Eye*. - 1991. - Vol. 5. - P. 686-693.

11. Pfeffer B.A. Transforming growth factor beta 2 is the predominant isoform in the neural retina, retinal pigment epithelium-choroid and vitreous of the monkey eye / B.A. Pfeffer, K.C. Flanders, C.J. Guerin [et al.] // *Exp. Eye Res.* - 1994. - Vol. 59. - P. 323-333.

12. Ruiz-Colmenares M.R.S. Cytokine gene polymorphisms in retinal detachment patients with and without proliferative vitreoretinopathy: a preliminary study / M.R.S. Ruiz-Colmenares, J.C.P. Jimeno, A.G. Adrados [et al.] // *Acta Ophthalmol. Scand.* - 2006. - Vol. 84. - P. 309-313.

13. Tojo N. Interactions between vitreous-derived cells and vascular endothelial cells in vitreoretinal diseases / N. Tojo, Y. Kashiwagi, K. Nishitsuka [et al.] // *Acta Ophthalmologica*. - 2010. - Vol. 88. - P. 564-570.

Резюме

Левицкая Г.В. Уровень фактора некроза опухоли- α и фактора роста эндотелия сосудов у больных ретинальной отслойкой сетчатки с разной степенью пролиферативной витреоретинопатии.

Известно, что факторы роста, среди них фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) и фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), осуществляют регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий, в том числе обладают способностью регулировать пролиферативные процессы. Поэтому изучение изменений цитокинового профиля у больных ретинальной отслойкой сетчатки (РОС) представляет интерес для получения более полного представления о патогенезе заболевания и разработки новых методов его лечения. Цель исследования - выявить особенности экспрессии ФНО- α и ФРЭС в стекловидном теле и витреальной жидкости у больных РОС с разной степенью пролиферативной витреоретинопатии (ПВР). У 79 больных РОС проведено стандартное офтальмологическое обследование. Пациенты были разделены на три группы - со степенью ПВР А, В и С. В стекловидном теле и витреальном содержимом определен уровень ФНО- α и ФРЭС иммуноферментным методом. При ПВР стадии А уровень ФНО- α в стекловидном теле - $39,98 \pm 21,95$ пг/мл, а по мере увеличения пролиферации - повышается в 2 и 3,5 раза при степени В и С. В витреальном содержимом содержание ФНО- α при степени В увеличивается на 38,2%, при степени С - в 2,5 раза относительно степени А. Концентрация ФРЭС в стекловидном теле также увеличивается при усилении ПВР: при В - в 1,7, степени С - в 2 раза. В витреальном содержимом различия между уровнем ФРЭС в группах с ПВР степени А и В составляют 31,7%, при ПВР степени С - 150%. Итак, в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных с РОС выявлено изменение цитокинового профиля в виде повышения концентрации ФРЭС и ФНО- α в зависимости от степени ПВР.

Ключевые слова: ретинальная отслойка сетчатки, пролиферативная витреоретинопатия, фактор некроза опухоли- α , фактор роста эндотелия сосудов, стекловидное тело, витреальное содержимое.

Резюме

Левицька Г.В. Рівень фактору некрозу пухлини- α та фактору росту ендотелію судин у хворих на ретинальне відшарування сітківки з різним ступенем проліферативної вітреоретинопатії.

Відомо, що фактори росту, серед них фактор некрозу пухлини- α (ФНП- α) і фактор росту ендотелію судин (ФРЕС), здійснюють регуляцію міжклітинних і міжсистемних взаємодій, в тому числі мають здатність регулювати проліферативні процеси. Тому вивчення змін цитокинового профілю у хворих на ретинальне відшарування сітківки (РВС) являє інтерес для отримання більш повного уявлення про патогенез захворювання і розробки нових методів його лікування. Мета дослідження - виявити особливості експресії ФНП- α і ФРЕС в склоподібному тілі та вітреальній рідині у хворих на РВС з різним ступенем проліферативної вітреоретинопатії (ПВР). У 79 хворих РВС проведено стандартне офтальмологічне обстеження. Пацієнти були розділені на три групи - зі ступенем ПВР А, В і С. В склоподібному тілі та вітреальній рідині визначено рівень ФНП- α і ФРЕС імуноферментним методом. При ПВР ступеня А рівень ФНП- α в склоподібному тілі становить $39,98 \pm 21,95$ пг/мл, а по мірі збільшення проліферації - підвищується в 2 та 3,5 рази при ступені В і С. У вітреальній рідині вміст ФНП- α при ступені В збільшується на 38,2%, а при ступені С - в 2,5 рази відносно ступеня А. Концентрація ФРЕС в склоподібному тілі також збільшується при посиленні ПВР: при ступені В - в 1,7 рази, ступені С - у 2 рази. У вітреальному вмісті відмінності між рівнем ФРЕС в групах з ПВР ступеня А і В становлять 31,7%, при ПВР ступеня С - 150%. Між рівнем досліджуваних цитокинів в склоподібному тілі і вітреальній рідині та ступенем ПВР виявлено прямий сильний кореляційний зв'язок. Отже, у склоподібному тілі і вітреальній рідині у хворих на РВС виявлено зміну цитокинового профілю у вигляді підвищення концентрації ФРЕС і ФНП- α в залежності від ступеня ПВР.

Ключові слова: ретинальне відшарування сітківки, проліферативна вітреоретинопатія, фактор некрозу пухлини- α , фактор росту ендотелію судин, склоподібне тіло, вітреальна рідина.

Summary

Levytska G.V. Tumor necrosis factor- α and vascular endothelial growth factor levels in patients with rhegmatogenous retinal detachment with varying degrees of proliferative vitreoretinopathy.

Growth factors including tumor necrosis factor- α (TNF- α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) performe regulation of intercellular interactions including regulation of proliferative processes. Aim to detect expression patterns of TNF- α and VEGF in the vitreous and vitreous fluid of rhegmatogenous retinal detachment (RRD) patients with varying degrees of proliferative vitreoretinopathy (PVR). In 79 RRD patients performed standard ophthalmologic examination. Patients were divided into three groups - PVR A, PVR B and PVR C. In the vitreous and vitreous contents TNF- α and VEGF level evaluated by ELISA. In cases with PVR A tumour 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 times. Concentration of VEGF in vitreous is also increasing by enhancing PVR. Grade A to B - 1,7 times, PVR grade A to C - 2 times. In vitreal contents VEGF level in PVR grade B group was higher by 31,7% and in PVR grade C by 150% than in PVR grade 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