

Коррекция уровня цитокинов слезы при макулодистрофии у лиц молодого возраста



С.В. Харинцева

Н.А. Логунов

Л.А. Голуб

М.Г. Зими́на

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава,
ул. Горького, 39а, Чита 672090, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучали роль изменений цитокинового статуса в патогенезе макулярной дегенерации и проводили оценку эффективности Ретиналамина в лечении больных с начальными дегенеративными изменениями в центральной области сетчатки.

Методы. Под наблюдением находилось 29 пациентов с макулярной дегенерацией в возрасте от 18 до 40 лет. Первая группа, состоящая из 9 человек (18 глаз), получала традиционное медикаментозное лечение. Во 2-й группе из 8 больных (16 глаз) в комплексную терапию входили парабульбарные инъекции Ретиналамина.

Результаты. Полученные данные позволяют судить о том, что в патогенезе макулярной дегенерации изменения концентрации провоспалительных цитокинов, в частности повышение уровня фактора некроза опухоли α (ФНО α), ведут к активации рецепторов на клеточных мембранах и служат сигналом к развитию апоптоза клеток сетчатки. Включение пептидного биорегулятора Ретиналамина в состав комплексной терапии снижает выработку ФНО α и повышает функциональную активность сетчатки при макулярной дегенерации в молодом возрасте.

Заключение. Пептидный биорегулятор Ретиналамин может быть рекомендован в клиническую практику как эффективный и безопасный препарат в составе комплексной терапии при начальных формах дистрофии центральной области сетчатки.

Ключевые слова: макулярная дегенерация, Ретиналамин, цитокиновый статус, ФНО α , апоптоз

ABSTRACT

S.V. Kharintseva, N.A. Logunov, L.A. Golub, M.G. Zimin

Correction of tear cytokine level at macular degeneration in young patients

Purpose: To study the role of cytokine status in pathogenesis of macular degeneration and to estimate the efficacy of peptide bioregulator Retinalamin at initial macular alteration.

Methods: 29 patients (range 18 to 40 years) were divided into two groups, with or without Retinalamin treatment.

Results: Increased level of TNF α leads to activation superficial cell receptor and apoptosis induction. Retinalamin has been shown to be effective in treatment of macular degeneration in young patients.

Conclusion: Peptide bioregulator Retinalamin can be recommended as effective and safety preparation for complex treatment of initial macular alteration.

Key words: macular degeneration, Retinalamin, cytokine status, TNF α , apoptosis

Свободно-радикальный путь индукции синтеза регуляторных белков и цитокинов, а также пролиферация клеток играет важную роль в возникновении и развитии ряда патологий, в том числе и макулодистрофии (МД). К развитию друз в фовеолярной области приводят и процессы апоптоза, которые регулируются рядом факторов, в том числе и системой цитокинов. Последние представляют собой растворимые белки, продуцируемые пигментным эпителием [5, 12]. Так, друзы и изменения в пигментном эпителии сетчатки могут офтальмоскопироваться уже в возрасте 12–20 лет и предшествовать развитию дегенеративного процесса [11]. В настоящее время неясно, в какой мере секреция естественных антител слезной жидкости и другие гуморальные факторы влияют на развитие макулярной дегенерации [10, 13].

Применяемые комплексные методы лечения начальной стадии дегенеративного процесса макулодистрофии, включающие в себя сосудорасширяющие средства, витамины, антиоксиданты, лазерные и хирургические вмешательства, а также электро- и магнитостимуляция, ограничены и не всегда бывают оправданы, особенно у молодых пациентов. Учитывая патогенетическую направленность [4, 8] и положительный опыт использования биорегуляторов для предотвращения прогрессирования заболевания [2], мы сочли возможным применить Ретиналамин в комплексной терапии у лиц молодого возраста с начальными изменениями в макулярной области.

Цель исследования: выяснить роль изменений цитокинового статуса в патогенезе макулярной дегенерации и оценить эффективность применения пептидного биорегулятора Ретиналамина в лечении больных молодого возраста с начальными дегенеративными изменениями в центральной области сетчатки.

Для достижения поставленной цели в задачи нашего исследования входило:

1. Исследовать показатели уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1а, ИЛ-1б, ФНОа) в слезе у больных макулярной дегенерацией.
2. Изучить влияние Ретиналамина на содержание провоспалительных цитокинов в слезной жидкости у пациентов с изменениями в макулярной зоне.
3. Оценить эффективность использования пептидного биорегулятора Ретиналамин на функциональное состояние сетчатки у больных макулярной дегенерацией.

Под наблюдением находились 29 пациентов с прединформной формой макулярной дегенерации в возрасте от 18 до 40 лет. Первая группа, состоящая из 9 человек (18 глаз), получала традиционное медикаментозное лечение. Во 2-й группе, включавшей 8 больных (16 глаз), назначали в комплексной терапии парабульбарные инъекции Ретиналамина по 10 мг, растворенного в 2 мл 0,25% раствора новокаина, в течение 10 дней. Контролем служили показатели 20 практически здоровых доноров соответствующего возраста без дистрофических изменений глазного дна.

Исследование включало статическую компьютерную периметрию на автоматическом перифрафе «Периком» («ВНИИМП-ОПТИМЕД-1», Москва). Визоконтрастометрия применялась для оценки как центрального, так и периферического полей зрения при помощи набора тестирующих решеток. Электрофизиологические исследования проводили на приборе «Эсом» (МНПП «Нейрон», Уфа) в условиях мезопического освещения. Проводили прямую офтальмоскопию в обычном и бескрасном фильтре, а также контактную биомикроскопию с помощью трехзеркальной линзы Гольдмана.

Материалом для исследования цитокинового статуса стала слезная жидкость, которую забирали методом адсорбции на фильтровальную бумагу, предложенным О. Schirmer [1]. Количественную оценку цитокинов (ИЛ-1а, ИЛ-1б, ИЛ-4 и ФНОа) в слезной жидкости проводили с использованием коммерческих наборов реагентов ТОО «Протеиновый контур-тест» (С-Петербург). По данным титрования стандартных образцов строили калибровочные графики для каждого из цитокинов, по которым определяли концентрацию ИЛ-1а, ИЛ-1б, ИЛ-4 и ФНОа в опытных образцах слезной жидкости [3]. Статистическая обработка результатов исследования выполнена на персональном компьютере Intel Pentium-4 с использованием общепринятых программ, включенных в электронные таблицы «Microsoft Excell» и «Statistica 6.0» для операционной системы Windows 98. Достоверность различий показателей в сопоставляемых группах оценивали по t-критерию Стьюдента для малых выборок ($n < 40$) [7]. Величины t-критерия Стьюдента получали с помощью вышеупомянутых электронных таблиц.

Таблица 1. Цитокиновый статус слезной жидкости у здоровых лиц и у больных макулярной дегенерацией ($M \pm m$)

Цитокины, пкг/мл	Контроль (n = 40)	Больные (n = 58)
ИЛ-1 α	34,1 $\pm$ 6,8	49,4 $\pm$ 7,6
ИЛ-1 β	41,8 $\pm$ 7,4	64,2 $\pm$ 8,1 p<0,01
ИЛ-4	15,3 $\pm$ 3,8	10,1 $\pm$ 1,2
ФНО α	180,2 $\pm$ 41,8	405,3 $\pm$ 54,5 p<0,001

Примечание: n – число обследуемых глаз; p – уровень значимости достоверных различий по сравнению с контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Истощение компенсаторных возможностей сетчатки при начальных изменениях в макулярной области выразилось поздней регистрацией появления электрофосфена и проявилось повышением порога электрической чувствительности (ПЭЧ) на 30%. У больных макулярной дегенерацией с близорукостью этот показатель оказался выше на 43,1% и снижение электрической лабильности (ЭЛ) на 24,2%. Отмечено снижение порога контрастной чувствительности (ПКЧ) на серый цвет в зоне высоких частот (1–5 тест)

на 70%, а также на 15% – в зоне средних и низких частот у больных с миопией. При статической компьютерной периметрии выявлено уменьшение количества норма-тест-объектов за счет появления в поле зрения относительных скотом I–II порядка (на их долю пришлось до 4%), увеличение времени реакции на предъявляемый пороговый стимул до 1,1–1,6 секунд, что указывает на функциональные нарушения сетчатки при начальных изменениях в макулярной области.

Следующим этапом нашей работы стало изучение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ФНО α) и противовоспалительного цитокина – ИЛ-4 в слезной жидкости у больных макулярной дегенерацией и у здоровых лиц того же возраста. Уровни цитокинов в слезной жидкости значительно превосходят уровень в плазме крови, что свидетельствует об их локальном синтезе. Поэтому определение уровней интерлейкинов в слезной жидкости является информативным источником локального цитокинового статуса при патологии сетчатки. При изучении содержания провоспалительных цитокинов в слезной жидкости (табл. 1) выявлено повышение уровней ИЛ-1 α и ИЛ-1 β у больных с начальными изменениями в макулярной зоне сетчатки на 2,2% и на 14%, соответственно (p<0,01).

Таблица 2. Влияние терапии на электрофизиологические показатели больных макулярной дегенерацией ($M \pm m$)

Вид терапии	До лечения	После лечения	Через 1 месяц после лечения
<i>Порог электрической чувствительности сетчатки, мкА (Контрольная группа – 134,9$\pm$16,87)</i>			
Т/л, I группа (n = 18)	174,44 $\pm$ 14,43 p<0,001	113,0 $\pm$ 5,06 p ₁ <0,001	137,76 $\pm$ 15,12 p ₂ <0,001
Т/л + ретиналамин, II группа (n = 16)	193,0 $\pm$ 20,4 p<0,001	178,0 $\pm$ 21,64	167,50 $\pm$ 21,17
<i>Лабильность зрительного нерва, Гц (Контрольная группа – 27,99$\pm$2,34)</i>			
Т/л, I группа (n = 18)	26,995 $\pm$ 2,35	31,4 $\pm$ 1,56 p ₁ <0,05	27,0 $\pm$ 1,9 p ₂ <0,05
Т/л + ретиналамин, II группа (n = 16)	21,2 $\pm$ 1,80 p<0,001	26,20 $\pm$ 0,75 p ₁ <0,05	26,75 $\pm$ 1,71
<i>Критическая частота слияния мельканий, Гц (Контрольная группа – 31,60$\pm$1,78)</i>			
Т/л, I группа (n = 18)	31,66 $\pm$ 1,66	37,25 $\pm$ 2,41	33,18 $\pm$ 1,58
Т/л + ретиналамин, II группа (n = 16)	27 $\pm$ 1,48	33,80 $\pm$ 1,00	33,62 $\pm$ 1,25

Примечание: n – число обследуемых глаз; Т/л – традиционное лечение; p – уровень значимости достоверных различий по сравнению с контролем; p₁ – уровень значимости достоверных различий по сравнению с результатами до лечения; p₂ – уровень значимости достоверных различий по сравнению с результатами после лечения

Данный факт может свидетельствовать о формировании дефектов в мембране клеток сетчатки и активации процессов перекисного окисления липидов. Отмечено снижение уровня ИЛ-4 на 1,73% у больных МД, что говорит о локальных изменениях в гуморальном звене иммунной системы. Однако ИЛ-4 в слезе регистрировался не у всех пациентов, как в контрольной, так и в группе больных с дегенерацией сетчатки.

У больных МД обнаружено высокое содержание ФНО α ($405,3 \pm 54,5$ пкг/мл), что превышало в 2 раза значения контрольных показателей ($p < 0,001$). Этот факт свидетельствует о нарушении функции пигментного эпителия сетчатки. Последний является барьерной тканью, которая путем выработки цитокинов поддерживает гомеостаз между глазом и организмом в целом. Увеличение ФНО α приводит к повышению Fas-индуцированного апоптоза, направленного на элиминацию лимфоцитов и антиген-представляющих клеток.

Полученные данные позволяют судить о роли в патогенезе макулярной дегенерации изменений уровней провоспалительных цитокинов, в частности повышения уровня ФНО α , ведущих к активации рецепторов на клеточных мембранах и служащих сигналом к развитию апоптоза клеток сетчатки и нарушению гематофтальмического барьера.

В 1-й группе, где была использована традиционная схема лечения, для оценки функциональной активности сетчатки проведены электрофизиологические исследования (табл. 2).

Так, порог электрической чувствительности сетчатки достоверно снизился на 35,2% ($p < 0,001$) после лечения, а затем уже имел тенденцию к повышению на 19,2% ($p < 0,001$). При традиционной терапии отмечена положительная динамика общей электрической активности сетчатки, так как через 1 месяц этот показатель на 3 мкА был выше контроля и оставался ниже показателя до лечения. Повысилась способность зрительного нерва проводить электрические импульсы на 16,3% ($p < 0,05$) по сравнению с результатами до лечения, а через месяц ЭЛ снизилась на 14% ($p < 0,05$) и не выходила за пределы контрольных значений. Показатель критической частоты слияния мельканий (КЧСМ) после проведенной терапии имел лишь тенденцию к повышению на 17,2%, а через 1 месяц снижался на 10,9%, что говорит о кратковременной активности папилломакулярного пучка.

Больные 2-й группы получали в составе комплексной

терапии Ретиналамин, при этом ПЭЧ сетчатки после лечения статистически проявлял тенденцию к понижению и через месяц, по сравнению с результатом до лечения, снизился на 13,2%. Лабильность зрительного нерва повысилась на 5 Гц, что составило 23,6% ($p < 0,05$). Результат не изменился при исследовании через 1 месяц. В процессе лечения КЧСМ не изменялась. Этот показатель оставался стабильным по окончании курса терапии и через 1 месяц после проведенного лечения, что подтверждает ретинопротекторный эффект Ретиналамина.

Полученные данные свидетельствуют об оказании выраженного действия Ретиналамина на папилломакулярный пучок, что проявляется в повышении зрительных функций. Эффективность препарата сказалась на повышении и стабильности КЧСМ и ЭЛ в течение 2-х месяцев, в то время как традиционная терапия приводила к кратковременному эффекту лишь в период лечения. При исследовании ПКЧ на ахроматический серый цвет после лечения отмечено повышение различительной способности в зоне высоких частот в обеих группах. После проведенного лечения традиционными препаратами при исследовании ПКЧ отмечено возрастание контраста в зоне высоких частот с захватом зоны среднечастотной характеристики и равномерным повышением чувствительности на 10%, а через 1 месяц после проведенной терапии показатели ПКЧ на серый цвет находились практически в зоне 100% и выше зрительной сохранности. Во 2-й группе больных после комплексного лечения с Ретиналамином выявлено достоверное повышение восприятия волн высокой частоты в 4-5 тесте на 20%. Через 1 месяц после проведенного лечения улучшилось восприятие в среднем и низкочастотном диапазоне на 15%. В месте перехода высоких частот в средние показатель оставался стабильно повышенным на 20%. Такую избирательность Ретиналамина можно объяснить действием на метаболические процессы фоторецепторов в периферических отделах сетчатки и на зрительный нерв и, в меньшей степени, на макулярную область.

Результаты статической компьютерной периметрии оценивались в динамике по критерию градации яркости и времени реакции на предъявляемый пороговый стимул. У больных, получавших традиционное лечение, отмечена тенденция к увеличению норма-тест-объектов на 2% после лечения, а через 1 месяц после проведенной терапии на 4,3% по сравнению с резуль-

татами до лечения. Через 1 месяц количество относительных скотом I уменьшилось на 81,5% ($p < 0,001$) по сравнению с результатом до лечения, а относительные скотомы II не регистрировались. Под действием Ретиналамина произошло увеличение количества норма-тест-объектов на 6,3% ($p < 0,01$) и через 1 месяц – уменьшение на 3,3% ($p < 0,01$). При этом отмечалось исчезновение относительных скотом сразу после лечения, сокращение числа абсолютных скотом на 34,3% ($p < 0,01$) и уменьшение размеров слепого пятна, что говорит о положительном влиянии Ретиналамина на состояние зрительного нерва.

Более информативными оказались тесты, характеризующие время реакции. В группе больных, получавших традиционную терапию, к концу 4-й недели, по сравнению с результатами до лечения, отмечено увеличение тестов с сокращением времени реакции на 10,3% ($p < 0,01$). На 75,4% ($p < 0,001$) стало меньше объектов, на которые затрачивалось время для различения больным до 1,1 секунды. Уменьшение времени реакции в 2 раза после лечения и в 8 раз через месяц, по сравнению с результатами до лечения, соответствует сокращению времени реакции на 10,3% ($p < 0,01$). Возможно, такое действие оказывают антоцианоиды, ускоряя восстановление обесцвеченного родопсина [6].

Возрастание различительной способности сетчатки и более быстрое реагирование на предъявляемый стимул отмечено у больных, которым проводили комплексную терапию с биорегулятором. У пациентов, получавших Ретиналамин, на 15,9% ($p < 0,01$) сократилось время реакции. Через 1 месяц число стимулов с сокращенным временем реакции увеличилось до 86,8%. На 35,4% уменьшилось число стимулов, на предъявление которых затрачивалось до 1,1 секунды ($p < 0,001$), и не зарегистрировано ни одного стимула, на реагирование которого затрачивалось бы от 1,1 до 1,6 секунды.

Таким образом, выявлено действие Ретиналамина на уровне фоторецепторов и нейронов периферических отделов сетчатки. Эффект сохранялся длительное время в сравнении с группой больных, получавших только традиционную терапию.

ВЫВОДЫ

1. У больных с начальными дегенеративными изменениями в макулярной области регистрируется повышенное содержание ФНО α в слезе.

2. Включение пептидного биорегулятора Ретиналамина в состав комплексной терапии снижает выработку ФНО α и повышает функциональную активность сетчатки при макулярной дегенерации в молодом возрасте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бржеский В.В., Сомов Е.Е. Синдром «сухого глаза». СПб., «Аполлон». 1998, 96 с.
2. Даниличев В.Ф., Хавинсон В.Х., Васильева Л.А. Применение ретилина (ретиналамина) для лечения периферической пигментной абiotрофии сетчатки. Офтальмол. журн. 2000; 5: 14–17.
3. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике. Цитокины и воспаление 2003; 2(3): 20–35.
4. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови: руководство для студентов лечебного, педиатрического и стоматологического факультетов. Чита, «Степанов М.А.», 2002, 320 с.
5. Мороз Б.Б. Актуальные проблемы патофизиологии. Избранные лекции. М., 2001.
6. Налобнова Ю.В., Егоров Е.А., Ставицкая Т.В. Влияние препарата «Миртикам» на функциональное состояние сетчатки больных с центральной инволюционной хориоретинальной дистрофией. Клини. офтальмол. 2003; 4(1): 29–31.
7. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине.

- Пер. с англ. М., ГЭОТАР – МЕД. 2003, 144 с.
8. Хавинсон В.Х., Трофимова С.В. Пептидные биорегуляторы в офтальмологии. СПб., ИКФ «Фолиант», 2002, 48 с.
9. Хасанова Н.Х., Беляева А.В. Результаты применения ретиналамина при заболеваниях сетчатки. Клини. офтальмол. 2008; 3: 77–82.
10. Черешнева М.В., Платова Л.А., Шилов Ю.И. и др. Закономерности изменений показателей гуморального иммунитета у больных с заболеваниями органа зрения. Вестн. офтальмол. 2000; 4: 22–25.
11. Шамшинова А.М. Наследственные и врожденные заболевания сетчатки и зрительного нерва. М., Медицина, 2001, с. 229–256.
12. Шкворченко Д.О., Щелоков А.М., Сухих Т.Т. и др. Современные аспекты трансплантации компонентов фетальной сетчатки при возрастной макулодистрофии. Новое в офтальмол. 2000; 2: 42–48.
13. Penfold, P.L., Madigan M.C., Gillies M.C. et al. Prog. Retine Eye Res. 2001; 3: 385–414.