

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ РАНИБИЗУМАБА НА ИММУННЫЙ СТАТУС СЛЕЗЫ У ЛИЦ С ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Кузнецов А. А.^{1,2}, Тур Е. В.¹, Ишмаков К. С.²

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России; ²ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»,
Челябинск, Россия

Исследовали влияние интравитреального введения ингибитора эндотелиального фактора роста А (VEGF-A) для лечения возрастной макулярной дегенерации (ВМД) сетчатки на иммунный статус слезы, оцениваемый методом мультиплексного анализа с определением концентрации BasicFGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF. Исследование показало, что указанное лечение приводит к достоверному снижению концентрации BasicFGF, Eotaxin, IL-13, TNF- α в слезной жидкости через 1 месяц.

Ключевые слова: мультиплексный анализ, слеза, цитокины, факторы роста, хемокины, возрастная макулярная дегенерация

Введение. Одной из ведущих причин необратимого прогрессирующего снижения зрения у лиц старше 55 лет является возрастная макулярная дегенерация (ВМД, N35.3 по МКБ-10) [1, 2]. Клинически наибольшую угрозу для зрения представляет неоваскулярная форма ВМД. В последнее время все большую роль в этиопатогенезе этого заболевания отводят иммунным реакциям и локальному воспалению [3]. «Золотым стандартом» лечения неоваскулярной ВМД считается интравитреальное применение препаратов, ингибирующих эндотелиальный фактор роста (VEGF). Учитывая инвазивность методик для оценки состояния местного иммунитета глаза непосредственно в полости глаза наибольший интерес представляет исследование слезной жидкости, которая, как нами было ранее показано [4], является биологически активной жидкостью, содержащей различные факторы, определяющие систему регуляции местного иммунитета глаза.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния интравитреального введения (ИВВ) ингибитора VEGF-A, ранибизумаба, для лечения ВМД сетчатки на иммунный статус слезы.

Материалы и методы. В исследование было включено 12 пациентов (4 мужчин, 8 женщин)

в возрасте от 63 до 79 лет (средний возраст составил $72,67 \pm 1,31$ года) с неоваскулярной ВМД, которым было проведено интравитреальное введение ранибизумаба («Луцентис», Novartis Pharma (Швейцария)). До проведения вмешательства и через месяц после него у всех пациентов собирали нестимулированную слезную жидкость асептически стерильной микропипеткой из латеральной части нижнего конъюнктивального свода одного глаза в объеме около 0,1-0,2 мл и помещали в стерильные маркированные пробирки типа Эппендорф 0,5 мл. Сразу после сбора образцы замораживали и хранили при температуре -70°C до проведения исследования. Все образцы были собраны примерно в одно и то же время суток (с 10-00 до 11-00) до инстилляций каких-либо глазных капель. Исследование слезной жидкости проводили на приборе Luminex Magpix (США) с помощью набора реактивов для мультиплексного анализа Bio-Rad (США) (BasicFGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF).

Полученные данные обрабатывали методами описательной статистики и выражали в виде средней и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). Межгрупповые сравнения проводили

Таблица 1. Оценка изменений уровней цитокинов в слезной жидкости через 1 месяц после интравитреального введения (ИВВ) ингибитора VEGF-A, ранибизумаба

Цитокин	Исходная концентрация M±m, пг/мл	Концентрация через 1 месяц после ИВВ, M±m, пг/мл	P, критерий Вилкоксона
INF-γ	252,72 ± 29,36	259,93 ± 32,55	0,95
IL-10	34,78 ± 3,36	33,91 ± 5,42	0,95
IL-12p70	66,78 ± 4,45	79,23 ± 10,17	0,26
IL-13	25,53 ± 2,10	17,60 ± 2,97	0,008 *
IL-15	27,53 ± 2,85	26,66 ± 5,38	0,95
IL-17a	46,94 ± 8,35	56,32 ± 12,30	0,95
IL-1β	11,38 ± 1,47	10,56 ± 1,65	0,86
IL-1ra	1192,53 ± 272,59	703,46 ± 114,28	0,14
IL-2	22,09 ± 2,20	16,10 ± 3,16	0,11
IL-4	7,19 ± 0,49	6,28 ± 0,85	0,26
IL-5	33,13 ± 5,37	28,21 ± 5,24	0,26
IL-6	31,69 ± 3,29	33,37 ± 3,80	0,86
IL-7	67,24 ± 8,09	72,95 ± 22,02	0,85
IL-9	27,06 ± 3,28	25,79 ± 2,93	0,37
TNF-α	92,19 ± 15,74	60,27 ± 11,64	0,01*

Таблица 2. Оценка изменений уровней факторов роста в слезной жидкости через 1 месяц после интравитреального введения (ИВВ) ингибитора VEGF-A, ранибизумаба

Фактор роста	Исходная концентрация M±m, пг/мл	Концентрация через 1 месяц после ИВВ, M±m, пг/мл	P, критерий Вилкоксона
Basic FGF	52,97 ± 8,51	38,65 ± 7,37	0,008 *
G-CSF	118,57 ± 12,68	90,65 ± 15,47	0,26
GM-CSF	20,17 ± 3,72	21,03 ± 3,52	0,77
PDGF-BB	100,25 ± 14,96	79,48 ± 15,23	0,21
VEGF	84,86 ± 18,13	107,56 ± 35,38	0,11

Таблица 3. Оценка изменений уровней хемокинов в слезной жидкости через 1 месяц после интравитреального введения (ИВВ) ингибитора VEGF-A, ранибизумаба

Хемокин	Исходная концентрация M±m, пг/мл	Концентрация через 1 месяц после ИВВ, M±m, пг/мл	P, критерий Вилкоксона
Eotaxin	57,55 ± 3,71	45,73 ± 5,89	0,028 *
IL-8	75,53 ± 15,55	142,45 ± 50,78	0,0051
IP-10	3890,83 ± 1396,79	4149,45 ± 1570,59	0,59
MCP-1	79,74 ± 12,67	81,79 ± 20,35	0,95
MIP-1a	5,73 ± 0,92	7,63 ± 1,78	0,14
MIP-1b	29,46 ± 4,76	20,48 ± 7,47	0,95
RANTES	48,01 ± 3,02	35,56 ± 5,99	0,09

с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для двух связанных выборок. Об уровне значимости судили при значении $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исследование показало, что в результате ИВВ ингибитора VEGF-A, ранибизумаба, с целью лечения неоваскулярной ВМД через 1 месяц происходит достоверное снижение уровня основного фактора роста фибробластов (Basic FGF), хемокина эотаксина, а также цитокинов интерлейкина-13 (IL-13) и фактора некроза опухоли- α (TNF- α) в слезной жидкости (Таблица 1-3). Это свидетельствует об ингибирующем влиянии ранибизумаба на пролиферацию новообразованных сосудов, фиброзной ткани, составляющих морфологическую основу неоваскулярной ВМД.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что иммунный статус слезы может свидетельствовать о состоянии системы регуляции местного иммунитета глаза, и может являться маркером эффективности

антиангиогенного лечения возрастной макулярной дегенерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Clemons T.E., Milton R.C., Clein R et al. Risk factors for the incidence of advanced age-related macular degeneration in the Age-Related Eye disease Study (AREDS). AREDS report number 19. *Ophthalmology* 2005, 112, 533-539.
2. Resnikoff S., Pascolini D., Etya'ale D., et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the World Health Organization* 2004, 82 (11), 844-851.
3. Khan M., Agarwal K., Loutfi M., Kamal A. Present and Possible Therapies for Age-Related Macular Degeneration. *ISRN Ophthalmology* 2014, article ID 608390, 7 pages.
4. Кузнецов А.А., Тур Е.В., Ишмаков К.С. Оценка уровня цитокинов слезы у условно здоровых лиц в возрасте старше 50 лет. *Российский иммунологический журнал* 2016, 10, 3(1) (19), 294-296. [Kuznetsov A.A., Tur E.V., Ishmakov K.S. Evaluation of human tear cytokine levels in practically healthy subjects aged over 50 years. *Russian Immunology Journal* 2016, 10, 3(1) (19), 294-296.]

EVALUATION OF INTRAVITREAL RANIBIZUMAB INJECTION INFLUENCE ON TEAR FLUID IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Kuznecov A.A.^{1,2}, Tur E.V.¹, Ishmakov K.S.²

¹South-Ural State Medical University; ²Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

Influence of intravitreal injection of vascular endothelial growth factor A inhibitor (VEGF-A) for aged-related macular degeneration treatment on tear fluid immune status, which was evaluated by multiplex analysis with assay of BasicFGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF was studied. The study showed that given treatment result in a significant decrease in BasicFGF, Eotaxin, IL-13, TNF- α levels in tear fluid in one month.

Key words: multiplex analysis, tear, cytokines, growth factors, chemokines, age-related macular degeneration