

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-127-134>



Влияние интравитреальной терапии диабетического макулярного отека на локальную и системную продукцию цитокинов

А.Ж. Фурсова^{1, 2} ✉, А.С. Дербенева^{1, 2}, О.С. Кожевникова³, Д.В. Телегина³, В.А. Девяткин³

¹ ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», ул. Немировича-Данченко, д. 130, Новосибирск, 630087, Россия

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Красный проспект, д. 52, Новосибирск, 630091, Россия

³ Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», пр-т Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090, Россия

Цель работы — анализ содержания цитокинов (ЦК) во внутриглазной жидкости (ВГЖ) и плазме крови пациентов с диабетическим макулярным отеком (ДМО), ранее не получавших интравитреальную терапию, до и после терапии ингибитором ангиогенеза или кортикостероидом. **Материал и методы.** Обследованы 90 пациентов, из них 60 пациентов с ДМО и 30 пациентов группы контроля, в том числе 47 (52,2 %) женщин и 43 (47,8 %) мужчины, в возрасте ($M \pm SD$): $64,54 \pm 11,30$ года. В ВГЖ пациентов определяли уровень 41 цитокина/хемокина (Milliplex[®] Map Human Cytokine/Chemokine Panel). В плазме крови определяли концентрацию IL-18, MCP-1/CCL2, EPO, IL-10, IL-4, IL-6, IL-8, IFN α , VEGF-A при помощи наборов для твердофазного иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Россия). Пациенты с ДМО получали интравитреальную терапию ингибитором ангиогенеза (афлиберцепт, 50 глаз) или кортикостероидом (имплантатом дексаметазона, 30 глаз). **Результаты.** Выявлены значимые отличия в концентрации 10 ЦК между группой пациентов с ДМО и группой контроля, при этом концентрации IL-7, IL-15 и MCP-1/CCL2 в ВГЖ при ДМО превышали таковые в контрольной группе соответственно в 20,5, 20,3 и 11,02 раза ($p < 0,05$). Попарное сравнение с контролем концентраций ЦК в ВГЖ пациентов из разных групп терапии дополнительно выявило значимое повышение содержания GRO α /CXCL1. Попарное сравнение также обнаружило значимые различия между контролем и группой кортикостероидной терапии для системных концентраций IL-18 ($p = 0,017$), MCP-1/CCL2 ($p = 0,009$) и VEGF-A ($p = 0,016$). **Заключение.** Выраженное и значимое повышение концентрации ряда ЦК в ВГЖ при ДМО (например, IL-7, IL-15, FRACTALKINE/CX3CL1) описывалось ранее в единичных работах или не определялось. Результаты, полученные при изучении системных концентраций ЦК, могут служить предпосылкой для дальнейшего изучения роли системного воспаления в патогенезе ДМО. Анализ ассоциаций полученных результатов с другими клиническими биомаркерами будет способствовать разработке индивидуализированных терапевтических стратегий.

Ключевые слова: диабетический макулярный отек; цитокины; внутриглазная жидкость; антиангиогенная терапия

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования: Фурсова А.Ж., Дербенева А.С., Кожевникова О.С., Телегина Д.В., Девяткин В.А. Влияние интравитреальной терапии диабетического макулярного отека на локальную и системную продукцию цитокинов. Российский офтальмологический журнал. 2023; 16 (1): 127-34. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-127-134>

The impact of intravitreal therapy of diabetic macular edema on the local and systemic production of cytokines

Anzhella Zh. Fursova^{1, 2} ✉, Anna S. Derbeneva^{1, 2}, Ouna S. Kozhevnikova³, Daria V. Telegina³, Vasily A. Devyatkin³

¹ Novosibirsk State Regional Hospital, 130, Nemirovich-Danchenko St., Novosibirsk, 630087, Russia

² Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia

³ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Lavrentiev Ave, 106, Novosibirsk, 630090, Russia
anzhellafursova@yandex.ru

Purpose: to analyze the levels of cytokines in intraocular fluid (IF) and blood plasma of patients with diabetic macular edema (DME) previously untreated by intravitreal therapy before and after the therapy by angiogenesis inhibitor or a corticosteroid. **Material and methods.** We examined 90 people — 47 females (52.2 %) and 43 males (47.8 %), mean age 64.54 ± 11.30 years. Of these, 60 had DME, and 30 formed the control group. The levels of 41 cytokines/chemokines in IF were determined by Milliplex® Map Human Cytokine/Chemokine Panel; while the concentration of IL-18, MCP-1/CCL2, EPO, IL-10, IL-4, IL-6, IL-8, IFN α , VEGF-A in blood plasma was measured by enzyme-linked immunosorbent assay kits (Vector-Best, Russia). Patients with DME received intravitreal injections of an angiogenesis inhibitor (aflibercept, 50 eyes) or a corticosteroid (dexamethasone implant, 30 eyes). **Results.** Significant differences were revealed in 10 cytokine concentrations between the DME patients and the control group. The concentrations of IL-7, IL-15 and MCP-1/CCL2 levels in IF of DME patients were, respectively, 20.5, 20.3, and 11.02 times higher, than in the control group ($p < 0.05$). Besides, a pairwise comparison of cytokines concentrations in IF of patients from either treatment group with the controls demonstrated a statistically significant increase in GRO α /CXCL1 level. The pairwise comparison also revealed significant differences between the control and the corticosteroid therapy for systemic concentrations of IL-18 ($p = 0.017$), MCP-1/CCL2 ($p = 0.009$) and VEGF-A ($p = 0.016$). **Conclusion.** A pronounced and significant increase of the levels of a number of cytokines (e.g., IL-7, IL-15, FRCTALKINE/CX3CL1) were only sparsely reported before or remained undetermined at all. Our results on systemic cytokines levels may serve as prerequisite for further research into the role of systemic inflammation in DME pathogenesis. The analysis of associations of our results with those of other clinical biomarkers will contribute to the development of individualized treatment strategies.

Keywords: diabetic macular edema; cytokines; intraocular fluid; anti-angiogenic treatment

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Fursova A.Zh., Derbeneva A.S., Kozhevnikova O.S., Telegina D.V., Devyatkin V.A. The impact of intravitreal therapy of diabetic macular edema on the local and systemic production of cytokines. Russian ophthalmological journal. 2023; 16 (1): 127-34 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-127-134>

Диабетический макулярный отек (ДМО) является ведущей причиной снижения зрения и качества жизни у пациентов с сахарным диабетом (СД). Патогенез ДМО — сложный и остается не до конца изученным. Известно, что гипергликемия сопровождается активацией полиолов, конечных продуктов гликирования, протеинкиназы C и гексозамина, что в свою очередь приводит к повышенному оксидативному стрессу, гиперрегуляции провоспалительных цитокинов, повреждению гематоретинального барьера и нейрососудистой дисфункции [1].

Все больше данных свидетельствует о том, что в основе ДМО лежит хронический вялотекущий местный воспалительный процесс. Показана ассоциация уровня различных цитокинов (ЦК), определяемых во внутриглазной жидкости (ВГЖ) и стекловидном теле, таких как VEGF-A, IL-6, MCP-1/CCL2, с патогенезом развития ДМО [2].

Существующие диагностические методы позволяют одновременно определять множественный набор внутриглазных ЦК в сравнительно небольшом объеме жидкости. Существующие и будущие возможности фармакотерапии ДМО позволяют осуществлять выбор между отдельными

интравитреальными видами терапии с разными мишенями и механизмами действия. Дальнейшее изучение патогенеза ДМО с выяснением роли отдельных цитокинов и их взаимодействий для принятия решений о выборе вида терапии, разработки индивидуализированных терапевтических стратегий, при контроле эффективности и прогнозировании результатов является востребованным и актуальным.

ЦЕЛЬ исследования — анализ содержания ЦК в ВГЖ и плазме крови пациентов с ДМО, ранее не получавших интравитреальную терапию, которым была проведена терапия ингибиторами ангиогенеза или имплантатом дексаметазона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе офтальмологического отделения Новосибирской государственной областной больницы. Обследованы 90 пациентов, из них 60 пациентов с ДМО (60 глаз), 30 пациентов (30 глаз) контрольной группы с диагнозом «старческая катаракта» (без ДМО), в том числе 47 (52,2 %) женщин и 43 (47,8 %) мужчины, средний возраст ($M \pm SD$) составил $64,54 \pm 11,3$ года, длительность СД — $12,9 \pm 3,5$ года. Каких-либо значимых отличий по полу,

возрасту между пациентами с ДМО и контрольной группой не определялось.

Критерии включения пациентов с ДМО в исследование: возраст ≥ 19 лет, СД II типа, наличие ДМО с вовлечением фовеа, центральная толщина сетчатки макулярной зоны в центральном подполе ≥ 300 мкм по данным оптической когерентной томографии (ОКТ), максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) $\geq 0,01$. Критерии исключения: выраженные помутнения хрусталика, МКОЗ $< 0,01$, сферозэквивалент более $\pm 6,0$ дптр, пролиферативная диабетическая ретинопатия (ДР), лазеркоагуляция в анамнезе, медикаментозная интравитреальная терапия в анамнезе, хирургические вмешательства на стекловидном теле, наличие глаукомы, увеита, а также патологии витреомакулярного интерфейса с тракционным компонентом и витреомакулярной адгезией.

Все пациенты получали интравитреальную терапию ингибиторами ангиогенеза (афлиберцепт, Эйлеа®, 50 глаз) или кортикостероидами (имплантат дексаметазона, Озурдекс®, 30 глаз) в соответствии с инструкциями по медицинскому применению препаратов, на основании чего было выделено две группы терапии. Выбор терапевтического агента у пациентов, соответствующих критериям включения, был основан на морфологических ОКТ-параметрах, являющихся биомаркерами активности местного воспаления. Основными показаниями для назначения глюкокортикостероидов были наличие отслойки нейроретинит (скопление субретинальной жидкости) и гиперрефлективных фокусов (активированных клеток микроглии) количеством более 30, предположительно коррелирующее с высокой концентрацией воспалительных цитокинов в стекловидном теле.

Забор ВГЖ выполнялся по стандартной методике в условиях операционной после местной эпibuльбарной анестезии раствором 0,5 % проксиметакаина (алкаина) (Alcon, США) в объеме 0,1 мл через канюлю 30 G через лимбальный парантез.

У пациентов с ДМО забор проводился перед проведением инъекции ингибитора ангиогенеза или инъекции имплантата дексаметазона, у пациентов контрольной группы — перед операцией факоэмульсификации катаракты. Каждый образец помещался в стерильную пластиковую пробирку и хранился при температуре -80°C до проведения анализа.

Анализ содержания ЦК в ВГЖ. Исследование ВГЖ включало определение содержания 41 цитокина/хемокина с помощью мультиметрической панели Milliplex® Map Human Cytokine/Chemokine Panel (Millipore HCYTMAG-60K-PX41, Германия) согласно методике производителя. Анализ результатов осуществлялся с учетом пределов чувствительности метода. Из исследуемой панели 41 цитокина/хемокина в пробах были обнаружены 22 медиатора, 9 из которых были представлены в следовых количествах. Для дальнейшего анализа использовали те ЦК, которые определялись не менее чем у 10 % пациентов в группе.

Анализ содержания ЦК в плазме крови. Концентрацию IL-18, MCP-1/CCL2, EPO (erythropoietin), IL-10, IL-4, IL-6, IL-8, IFN α , VEGF-A в плазме крови пациентов определяли при помощи наборов для твердофазного иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Россия) в соответствии с протоколами производителя.

Статистический анализ проводили в программе Statistica 13. Показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). При отсутствии нормального распределения данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна — Уитни. Сравнение трех групп выполнялось с помощью критерия Краскела — Уоллиса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Данное исследование было проведено в соответствии с Хельсинской декларацией на основании подписанного пациентом информированного добровольного согласия, одобрено этическим комитетом организации (протокол заседания № 1 от 14.03.2019).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ содержания ЦК в ВГЖ. Максимальное содержание в ВГЖ пациентов с ДМО было выявлено для IP-10/CXCL10 и MCP-1/CCL2, медиана концентраций которых составила соответственно 1467,66 и 1857,07 пг/мл (табл. 1).

Таблица 1. Концентрации ЦК в ВГЖ пациентов с ДМО и контрольной группы

Table 1. Cytokines concentrations in intraocular fluid in patients with diabetic macular edema (DME) and in control group

Цитокин Cytokine	ДМО, пг/мл DME, pg/ml		Контроль, пг/мл Control, pg/ml		p-value
	медиана median	Q1–Q3	медиана median	Q1–Q3	
IL-8 / CXCL8	3,58	2,99–5,27	0,56	0,36–1,03	0,005*
IP-10 / CXCL10	1467,66	1224,14–1692,51	243,69	163,38–294,08	0,018*
MCP-1/CCL2	1857,07	1507,76–2076,14	168,45	103,28–309,90	0,005*
PDGF-AA	43,73	39,78–52,84	5,98	4,07–7,43	0,02*
GRO α /CXCL1	31,60	23,79–34,35	3,51	2,66–5,17	0,423
FRACTALKINE/ CX3CL1	21,20	12,32–22,91	2,59	1,63–3,13	0,005*
VEGF-A	167,51	141,96–224,34	23,16	12,78–41,62	0,001*
MDC / CCL22	5,51	2,60–14,14	1,76	0,92–9,21	0,095
MIP-1 β / CCL4	20,28	13,56–22,12	2,09	1,55–2,66	0,005*
IL-15	23,34	20,12–30,01	1,15	0,18–1,69	0,01*
IL-7	29,78	26,56–33,56	1,45	0,46–2,67	0,012*
IL-6	33,73	30,24–39,56	6,24	2,94–9,82	0,01*

Примечание. * — различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$, U-критерий Манна — Уитни).

Note. * — difference is statistically significant ($p < 0,05$, Mann — Whitney U-test).

Сравнение показателей пациентов с ДМО и группы контроля выявило значимые отличия в уровне десяти ЦК (IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, PDGF-AA, FRACTALKINE/CX3CL1, VEGF-A, MIP-1 β /CCL4, IL-15, IL-7, IL-6). При этом концентрации IL-7, IL-15 и MCP-1/CCL2 в ВГЖ пациентов с ДМО превышали таковые в группе контроля соответственно в 20,5, 20,3 и 11,02 раза.

В таблице 2 представлены концентрации ЦК у пациентов с ДМО в двух группах терапии (имплантатом дексаметазона и афлиберцептом) и контрольной группе, а в таблице 3 — значения p при попарных сравнениях значений всех трех групп.

Анализ содержания ЦК в ВГЖ пациентов разных групп терапии показал, что у пациентов, получивших имплантат дексаметазона, концентрация единственного ЦК — IL-8/CXCL8 — 4,29 пг/мл — статистически значимо выше, чем у пациентов, получивших афлиберцепт, — 2,95 пг/мл ($p = 0,005$) (табл. 2). Различия концентраций других ЦК в группах терапии были статистически незначимыми.

При отдельном анализе каждой из групп терапии максимальные концентрации, так же как и в общей группе, были выявлены у следующих ЦК: IP-10/CXCL10 и MCP-1/CCL2, составивших в группах терапии имплантатом декса-

метазона и афлиберцептом 1574,77 и 1995,61 пг/мл, 1321,89 и 1767,79 пг/мл соответственно (табл. 2).

Попарное сравнение с контролем концентраций ЦК в ВГЖ пациентов из разных групп терапии подтвердило значимость различий для упомянутых выше 10 ЦК (при сравнении групп «пациенты с ДМО — контроль») за исключением одного — IL-8/CXCL8 при сравнении «афлиберцепт — контроль» (табл. 3). Дополнительно выявлено статистически значимое повышение содержания GRO α /CXCL1 в ВГЖ пациентов, получивших имплантат дексаметазона 32,01 пг/мл и афлиберцепт: 29,57 vs 3,51 пг/мл (контроль) с $p = 0,0001$ для каждого сравнения.

Анализ содержания ЦК в плазме крови. В таблице 4 представлены концентрации ЦК в плазме крови у пациентов с ДМО и контрольной группы: достоверных различий между исследованными показателями не выявлено.

Попарное сравнение обнаружило значимые различия между контрольной и группой кортикостероидной терапии для IL-18 ($p = 0,017$), MCP-1/CCL2 ($p = 0,009$) и VEGF-A ($p = 0,016$). Достоверные различия между контрольной группой и группой афлиберцепта касались концентрации IL-4 ($p = 0,038$).

Таблица 2. Концентрации ЦК в ВГЖ пациентов с ДМО в группах терапии афлиберцептом, дексаметазоном и группе контроля
Table 2. Cytokines concentrations in intraocular fluid in patients with DME and treatment groups by aflibercept and dexamethasone implant and in control group

Цитокин Cytokine	Дексаметазона имплантат, пг/мл Dexamethasone implant, pg/ml		Афлиберцепт, пг/мл Aflibercept, pg/ml		Контроль, пг/мл Control, pg/ml	
	медиана median	Q1–Q3	медиана median	Q1–Q3	медиана median	Q1–Q3
IL-8/CXCL8	4,29	3,60–6,72	2,95	2,47–3,30	0,56	0,36–1,03
IP-10/CXCL10	1574,77	1345,33–1827,68	1321,89	1108,19–1674,75	243,69	163,38–294,08
MCP-1/CCL2	1995,61	1518,65–2307,78	1767,79	1488,87–1885,50	168,45	103,28–309,90
PDGF-AA	50,83	43,30–53,73	42,08	32,79–43,51	5,98	4,07–7,43
GRO α /CXCL1	32,01	26,57–36,79	29,57	23,27–33,46	3,51	2,66–5,17
FRACTALKINE/CX3CL1	21,59	16,85–22,54	14,15	12,21–23,38	2,59	1,63–3,13
VEGF-A	156,41	127,74–187,43	186,86	166,85–238,38	23,16	12,78–41,62
MDC/CCL22	5,09	0,92–29,65	5,92	2,60–10,04	1,76	0,92–9,21
MIP-1 β /CCL4	21,66	17,58–22,44	15,45	11,72–21,12	2,09	1,55–2,66
IL-6	36,40	30,44–44,57	31,50	24,55–34,52	6,24	2,94–9,82
IL-7	30,23	28,67–34,34	28,89	21,79–30,93	1,45	0,46–2,67
IL-15	25,51	22,12–31,45	20,79	18,00–24,23	1,15	0,18–1,69

Таблица 3. Значение различий (p) концентраций ЦК в ВГЖ пациентов с ДМО групп терапии дексаметазоном, афлиберцептом и группы контроля

Table 3. P-value of intraocular fluid cytokines concentrations differences in patients with DME treatment groups by aflibercept and dexamethasone implant and in control group

Цитокин Cytokine	Дексаметазона имплантат — афлиберцепт (p) Dexamethasone implant — Aflibercept (p)	Дексаметазона имплантат — контроль (p) Dexamethasone implant — Control (p)	Афлиберцепт — контроль (p) Aflibercept — Control (p)
IL-8/CXCL8	0,005	0,0001	0,06
IP-10/CXCL10	0,58	0,0001	0,01
MCP-1/CCL2	0,384	0,0001	0,001
PDGF-AA	0,06	0,0001	0,03
GRO α /CXCL1	1,00	0,0001	0,0001
FRACTALKINE/CX3CL1	1,00	0,0001	0,001
VEGF-A	0,219	0,0001	0,005
MDC/CCL22	1,00	0,586	0,369
MIP-1 β /CCL4	0,108	0,0001	0,02
IL-6	0,258	0,0001	0,02
IL-7	0,475	0,0001	0,001
IL-15	0,238	0,0001	0,0001

Анализ уровня ЦК в зависимости от группы терапии (табл. 5) показал, что уровень провоспалительного хемокина MCP-1/CCL2 достоверно различался между группами ($p = 0,015$, критерий Краскелла — Уоллиса), а именно был достоверно повышен в группе применения имплантата дексаметазона в сравнении с контрольной группой ($p = 0,017$) и группой терапии афлиберцептом ($p = 0,013$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания ЦК в ВГЖ. В ряде работ проводилось сопоставление уровня ЦК в водянистой влаге пациентов с ДМО и контролем (как правило, пациентов, оперированных по поводу катаракты). Наиболее высокие концентрации IP-10 и MCP-1 по сравнению с другими ЦК и значительно отличающиеся от таковых в контрольной группе, выявленные в настоящем исследовании, подтверждались в других исследованиях ВГЖ при ДМО [3]. Была показана выраженная локальная интраокулярная продукция IP-10 и MCP-1/CCL2 (наряду с IL-6, IL-8, HGF, LIF и VEGF-A) при анализе проб стекловидного тела (по сравнению с сывороткой крови) у пациентов с осложненной пролиферативной диабетической ретинопатией [4]. Роль этих ЦК является ключевой в воспалении и ангиогенезе при ДМО. Так, IP-10 способствует рекрутингу моноцитов и Т-лимфоцитов в сетчатку [5], а MCP-1 не только стимулирует миграцию и инфильтрацию поврежденных стенок сосудов моноцитами [6], но и индуцирует ангиогенез за счет повышения экспрессии гена VEGF-A [7]. При этом различие в концентрации MCP-1, которое характеризовалось почти 10-кратным повышением у пациентов с ДМО по сравнению с контролем,

может косвенно указывать на его вклад в развитие данного патологического состояния.

Среди других ЦК, уровень которых в ВГЖ у пациентов с ДМО был значимо, в 20 раз, выше, чем в контрольной группе, — IL-7 и IL-15. Данные о содержании IL-7 и IL-15 в водянистой влаге у пациентов с диабетическими поражениями сетчатки ограничены и противоречивы. Например, в исследовании Q. Wei и соавт. [8] исходный уровень IL-7 у пациентов с ДМО значимо не отличался от контроля, а уровень IL-15 находился за пределами значений, подлежащих определению. В другой работе, где уровень ЦК измерялся у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией с последующим развитием / без последующего развития макулярного отека после витрэктомии, содержание IL-7 и IL-15 в стекловидном теле не имело ни значимых различий исходно, ни влияло на риски развития ДМО [9]. При этом IL-7 описан как один из ЦК, уровень которых значимо снижается на фоне антиангиогенной терапии [10].

Сходные данные описаны для FRACKALKINE/CX3CL1 — несмотря на отсутствие исходных отличий его уровня у пациентов с ДМО и группы контроля, он статистически значимо снижался на фоне терапии афлиберцептом [11].

IL-7 и IL-15 рассматриваются как ключевые ЦК в регуляции гомеостаза и пролиферации Т-лимфоцитов [12, 13], и их изучение в качестве потенциальных мишеней может быть полезно в перспективе терапии Th17-опосредованных аутоиммунных офтальмологических заболеваний [13]. Полученные нами результаты, касающиеся IL-7 и IL-15, могут свидетельствовать о выраженном воспалительном клеточном компоненте патогенеза ДМО, что предстоит подтвердить.

Таблица 4. Концентрация ЦК в плазме крови у пациентов с ДМО и контрольной группы

Table 4. Cytokines concentrations in blood plasma of patients with DME and control group

Цитокин Cytokine	Контроль, пг/мл Control, pg/ml	ДМО, пг/мл DME, pg/ml	p-value
IL-18	310,2 (232,8; 371,2)	239,3 (172,7; 351)	0,085
MCP-1/CCL2	33,2 (19,2; 62,2)	41,3 (54,1; 61,5)	0,189
EPO	86,8 (67,9; 128)	100,6 (79,1; 125,2)	0,336
IL-10	0,2 (0; 1,7)	0,8 (0; 2,4)	0,259
VEGF-A	103,8 (47; 152,8)	132,3 (68,1; 202,4)	0,108
IFN α	13,7 (12,7; 14,9)	12 (11,4; 14,7)	0,149
IL-4	1,1 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,3	0,131
IL-6	1 (0,6; 1,7)	1,6 (1; 2,9)	0,243
IL-8	2,8 $\pm$ 1,3	3,5 $\pm$ 1,7	0,282

Таблица 5. Концентрации ЦК в плазме крови пациентов с ДМО групп терапии афлиберцептом и дексаметазоном и в контрольной группе

Table 5. Cytokines concentrations in blood plasma of patients with DME in aflibercept and implant dexamethasone treatment groups and in control group

Цитокин Cytokines	Контроль, пг/мл Control, pg/ml (1)	Афлиберцепт, пг/мл Aflibercept, pg/ml (2)	Дексаметазона имплантат, пг/мл Dexamethasone implant, pg/ml (3)	p-value
IL-18	310,2 (232,8; 371,2)	239,3 (175,4; 353,9)	220,3 (171,2; 272)	0,093
MCP-1/CCL2	33,2 (19,2; 62,2)	33,4 (20,5; 54,5)	58,2 (36,2; 82,6)	0,015* p2-3 = 0,013 p1-3 = 0,017
EPO	86,8 (67,9; 128)	99,3 (79; 118,2)	105,5 (81,9; 130,2)	0,415
IL-10	0,2 (0; 1,7)	0,5 (0; 2,2)	0,9 (0; 2,4)	0,502
VEGF-A	103,8 (47; 152,8)	104,6 (53,6; 178,1)	160,1 (88,8; 246,7)	0,063
IFN α	13,7 (12,7; 14,9)	12 (11,3; 14,7)	12,2 (11,5; 14,2)	0,33
IL-4	1,1 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,3	0,093
IL-6	1 (0,6; 1,7)	1,6 (0,7; 3,2)	1,3 (1,1; 2,5)	0,476
IL-8	2,9 (1,5; 4,2)	3,9 (2,5; 4,4)	3,4 (1,4; 5,8)	0,369

Примечание. * — различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Краскелл — Уоллиса с пост-хок-сравнениями).

Note. * — difference is statistically significant ($p < 0,05$, Kruskal — Wallis test with post-hoc comparisons).

В современной концепции патогенеза ДМО [14, 15] VEGF-A играет ключевую роль и является признанной терапевтической мишенью. Предполагается, что гипоксия сетчатки и нарушение биохимических процессов в ней как следствие гипергликемии приводят к повышению уровня VEGF-A в стекловидном теле с последующим развитием ДМО [15]. При этом VEGF-A рассматривается как ключевой пусковой фактор развития макулярного отека, поскольку увеличивает сосудистую проницаемость, что является иницирующим для последующего каскада событий в патогенезе ДМО. Описано, что при ДМО VEGF-A в стекловидном теле определяется в значительно более высоких концентрациях, чем в контрольной группе пациентов с неишемическими заболеваниями, такими как макулярный разрыв [16]. Однако уровень VEGF-A характеризуется вариабельностью, и его повышение при ДМО может наблюдаться не всегда [17]. В нашем исследовании концентрация VEGF-A в ВГЖ при ДМО значимо, в 7,2 раза, превышала таковую в контрольной группе.

Другим ЦК, одним из эффектов которого также является повышение сосудистой проницаемости, является IL-8. Однако основные последствия повышения активности этого ЦК связаны с его ролью как мощного хемоаттрактанта, который запускает воспалительный ответ за счет активации нейтрофилов и Т-лимфоцитов [15]. Показано, что более низкие уровни IL-8 при ДМО могут являться предикторами ответа на анти-VEGF терапию [18].

Данные литературы об уровне IL-6 (еще одного ЦК, повышение концентрации которого у пациентов с ДМО в нашем исследовании характеризовалось как значимое) не являются однозначными. В то время как в одном из исследований была выявлена ассоциация между уровнем IL-6 и риском развития ДМО и сделано заключение о его роли как потенциального предиктора или даже терапевтической мишени [14], в других исследованиях значимых отличий между группами ДМО и контролем не выявлено [19, 20].

Дополнительной находкой при попарном сравнении (сопоставлении с контролем каждой из групп терапии) был значимо повышенный уровень GRO α /CXCL1. Он представляет собой хемокин, осуществляющий рекрутмент нейтрофилов и базофилов и вовлеченный в процессы воспаления и ангиогенеза [21]. Повышенный по сравнению с контролем уровень GRO/CXCL1 был описан в плазме пациентов с диабетом, а также в стекловидном теле пациентов с пролиферативной ДР [22]. GRO α /CXCL1 ограниченно изучался в водянистой влаге при ДМО: в одной из работ он описан как ЦК, который, несмотря на исходное отсутствие значимых отличий в концентрации по сравнению с контролем, продемонстрировал статистически значимое снижение на фоне антиангиогенной терапии и положительно коррелировал с морфологическими признаками регресса макулярного отека [11].

В нашей работе пациенты с любой интравитреальной терапией в анамнезе не включались в исследование. Статус предшествующей терапии может объяснять неоднородные данные по содержанию ЦК в ВГЖ пациентов с ДМО. Например, в недавно опубликованном метаанализе S. Minaker и соавт. [1] среди пациентов, не получавших лечение в течение предшествующих 3 мес, наблюдалось значимое повышение IL-6, IL-8, MCP-1 и VEGF-A в водянистой влаге. При исключении пациентов, ранее получавших какое-либо лечение, и анализе результатов «наивных» пациентов значимое увеличение концентрации было подтверждено только для IL-8 и VEGF-A, в отличие от IL-6 и MCP-1 (что, с другой стороны, может объясняться недостаточным числом исследований, включенных в метаанализ).

Дальнейшие исследования могут способствовать более детальному изучению роли ЦК в ассоциации с отдельными клиническими проявлениями. Например, исходный уровень IL-6 в исследовании L. de Freitas и соавт. [23] был в 3,4 раза выше, чем в контроле, и 2,5 раза выше у пациентов с ишемией, чем у пациентов с ДМО, у которых признаки ишемии не были выявлены.

Анализ содержания ЦК в плазме крови. В ряде исследований описаны системные уровни метаболических и воспалительных факторов при ДР — наиболее частом офтальмологическом осложнении СД II, но о роли и содержании этих факторов при ДМО известно немного. Отсутствие значимых различий в общей когорте пациентов с ДМО по сравнению с контролем (пациентами без СД II) может объясняться, например, набором изученных ЦК. Так, в недавно опубликованном исследовании N. Zhang и соавт. [24] в пилотной когорте (9 пациентов — с ДМО, 9 пациентов — с СД II) на первом этапе были проанализированы 60 ЦК, которые включали большинство изученных нами (кроме IL-18 и ЕРО), что позволило авторам первично идентифицировать 11 ЦК как значимо повышенных при ДМО. В расширенной когорте (200 пациентов) подтвердили значимость таких ЦК, как тромбоцитарный фактор роста (PDGF-BB), тканевой ингибитор металлопротеиназ (TIMP-1), ангиопозтин (ANG-1) и рецептор к VEGF-A (VEGFR-2), которые также оказались значимыми в модели прогнозирования развития ДМО. В другом исследовании, где в качестве контрольной группы были пациенты с СД II без ДМО [25], каких-либо значимых различий концентраций воспалительных биомаркеров сыворотки крови (IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1/CCL2, IP-10, IFN- γ , TNF- α и VEGF-A) между пациентами с ДМО и без ДМО не выявлено. Однако повышенный уровень некоторых ЦК при ДМО был ассоциирован с отдельными признаками активности по результатам ОКТ. Поскольку в нашем исследовании выбор терапии кортикостероидами был основан на морфологических параметрах, которые являются признаками активности и потенциально могут быть ассоциированы с большей активностью не только локального, но и системного воспаления, этим могут объясняться значимые различия, выявленные в группе терапии имплантатом дексаметазона относительно системных концентраций IL-8, MCP-1/CCL2 и VEGF-A (в отличие от объединенной группы и группы афлиберцепта).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании мы провели анализ содержания цитокинов/хемокинов в ВГЖ и плазме крови пациентов с ДМО. Обнаружено, что с ДМО ассоциированы несколько ЦК, определяемых интраокулярно, ряд которых обладают известными характеристиками и функции которых при ДМО описаны как провоспалительные и ангиогенные (VEGF-A, IL-8) или главным образом провоспалительные (IL-6, MCP-1/CCL2). При этом выраженное и значимое повышение концентрации других ЦК в ВГЖ при ДМО (например, IL-7, IL-15, FRACTALKINE/CX3CL1) описывалось ранее в единичных работах или не определялось.

Концентрации некоторых ЦК в ВГЖ могут быть исходно, до начала терапии, ассоциированы с отдельными клиническими проявлениями ДМО, а также являться предикторами ответа на терапию.

Несмотря на ожидания зеркальной или сходной картины в обнаружении при ДМО повышенных концентраций провоспалительных медиаторов интраокулярно и системно, эти ожидания не были подтверждены в данном исследовании. Поскольку ДМО представляет собой мультифакториальное

заболевание, которое является следствием сложных взаимодействий системных и локальных воспалительных факторов, полученные результаты могут служить предпосылкой для дальнейшего изучения роли системного воспаления в патогенезе ДМО.

Следующим этапом нашей работы будет анализ возможных ассоциаций между исходными уровнями цитокинов и анатомическим и функциональным ответом на анти-VEGF терапию и терапию кортикостероидами с сопоставлением локального и системного ответа с другими, ранее описанными нами [26, 27] и другими авторами, биомаркерами для последующей разработки индивидуализированных схем терапии.

Литература/References

1. Minaker S.A., Mason R.H., Lahaie Luna G., et al. Changes in aqueous and vitreous inflammatory cytokine levels in diabetic macular oedema: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol.* 2022; 100 (1): e53–e70. doi: 10.1111/aos.14891
2. Das A., McGuire P.G., Rangasamy S. Diabetic Macular Edema: Pathophysiology and Novel Therapeutic Targets. *Ophthalmology.* 2015; 122 (7): 1375–94. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.03.024
3. Mao J., Zhang S., Zheng Z., et al. Prediction of anti-VEGF efficacy in diabetic macular oedema using intraocular cytokines and macular optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol.* 2022; 100 (4): e891–e898. doi: 10.1111/aos.15008
4. Нероев В.В., Зайцева О.В., Балацкая Н.В., Лазутова А.А. Локальная и системная продукция 45 цитокинов при осложненной пролиферативной диабетической ретинопатии. *Медицинская иммунология.* 2020; 22 (2): 301–10. [Neroev V.V., Zaytseva O.V., Balatskaya N.V., Lazutova A.A. Local and systemic production of 45 cytokines in complicated proliferative diabetic retinopathy. *Medical immunology.* 2020; 22 (2): 301–10 (in Russian)]. doi: 10.15789/1563-0625-LAS-1802
5. Ide N., Hirase T., Nishimoto-Hazuku A., Ikeda Y., Node K. Angiotensin II increases expression of IP-10 and the renin-angiotensin system in endothelial cells. *Hypertens Res.* 2008; 31 (6): 1257–67. doi: 10.1291/hypres.31.1257
6. Romero-Aroca P., Baget-Bernaldiz M., Pareja-Rios A., et al. Diabetic Macular Edema Pathophysiology: Vasogenic versus Inflammatory. *J Diabetes Res.* 2016; 2016: 2156273. doi: 10.1155/2016/2156273
7. Hong K.H., Ryu J., Han K.H. Monocyte chemoattractant protein-1-induced angiogenesis is mediated by vascular endothelial growth factor-A. *Blood.* 2005; 105 (4): 1405–7. doi: 10.1182/blood-2004-08-3178
8. Wei Q., Wan Z., Hu Y., Peng Q. Cytokine and Chemokine Profile Changes in Patients After Intravitreal Conbercept Injection for Diabetic Macular Edema. *Drug Des Devel Ther.* 2019; 13: 4367–74. doi: 10.2147/DDDT.S222004
9. Sun H., Zou W., Zhang Z., et al. Vitreous Inflammatory Cytokines and Chemokines, Not Altered After Preoperative Adjunctive Conbercept Injection, but Associated With Early Postoperative Macular Edema in Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy. *Front Physiol.* 2022; 13: 846003. doi: 10.3389/fphys.2022.846003
10. Lim S.W., Bandala-Sanchez E., Kolic M., et al. The Influence of Intravitreal Ranibizumab on Inflammation-associated Cytokine Concentrations in Eyes With Diabetic Macular Edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59 (13): 5382–90. doi: 10.1167/iovs.17-23325
11. Mastropasqua R., D'Aloisio R., Di Nicola M., et al. Relationship between aqueous humor cytokine level changes and retinal vascular changes after intravitreal aflibercept for diabetic macular edema. *Sci Rep.* 2018; 8 (1): 16548. doi: 10.1038/s41598-018-35036-9
12. Mengus C., Le Magnen C., Trella E. et al. Elevated levels of circulating IL-7 and IL-15 in patients with early stage prostate cancer. *J Transl Med.* 2011; 9: 162. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-162>
13. Chen Y., Chauhan S.K., Tan X., Dana R. Interleukin-7 and -15 maintain pathogenic memory Th17 cells in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2017; 77: 96–103. doi: 10.1016/j.jaut.2016.11.003
14. Wu J., Zhong Y., Yue S., et al. Aqueous Humor Mediator and Cytokine Aberrations in Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers.* 2019; 2019: 6928524. doi: 10.1155/2019/6928524
15. Noma H., Yasuda K., Shimura M. Involvement of Cytokines in the Pathogenesis of Diabetic Macular Edema. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (7): 3427. doi: 10.3390/ijms22073427
16. Funatsu H., Yamashita H., Ikeda T., et al. Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2003; 110: 1690–1696. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00568-2
17. Funatsu H., Noma H., Mimura T., Eguchi S., Hori S. Association of vitreous inflammatory factors with diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2009; 116 (1): 73–9. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.09.037
18. Kwon J.W., Jee D. Aqueous humor cytokine levels in patients with diabetic macular edema refractory to anti-VEGF treatment. *PLoS One.* 2018 Sep 11; 13 (9): e0203408. doi: 10.1371/journal.pone.0203408
19. Sohn H.J., Han D.H., Kim I.T., et al. Changes in aqueous concentrations of various cytokines after intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2011; 152 (4): 686–94. doi: 10.1016/j.ajo.2011.03.033
20. Yu S.Y., Nam D.H., Lee D.Y. Changes in aqueous concentrations of various cytokines after intravitreal bevacizumab and subtenon triamcinolone injection for diabetic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2018; 256 (1): 39–47. doi: 10.1007/s00417-017-3819-2
21. Schoenberger S.D., Kim S.J., Sheng J., et al. Increased prostaglandin E2 (PGE2) levels in proliferative diabetic retinopathy, and correlation with VEGF and inflammatory cytokines. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53 (9): 5906–11. doi: 10.1167/iovs.12-10410
22. Sajadi S.M., Khoramdelazad H., Hassanshahi G., et al. Plasma levels of CXCL1 (GRO-α) and CXCL10 (IP-10) are elevated in type 2 diabetic patients: evidence for the involvement of inflammation and angiogenesis/angiostasis in this disease state. *Clin Lab.* 2013; 59 (1–2): 133–7. doi: 10.7754/clinlab.2012.120225
23. de Freitas L.G.A., Isaac D.L.C., Abud M.B., et al. Analysis of cytokines in the aqueous humor during intravitreal Ranibizumab treatment of diabetic macular edema. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 23981. doi: 10.1038/s41598-021-03433-2
24. Zhang N., Ke J., Zhang D., et al. A dynamic nomogram for predicting diabetic macular edema in type 2 diabetes patients based on plasma cytokines. *Aging (Albany NY).* 2021; 13 (6): 8369–79. doi: 10.18632/aging.202647
25. Figueras-Roca M., Molins B., Sala-Puigdollers A., et al. Peripheral blood metabolic and inflammatory factors as biomarkers to ocular findings in diabetic macular edema. *PLoS One.* 2017; 12 (3): e0173865. doi: 10.1371/journal.pone.0173865
26. Фурсова А.Ж., Дербенева А.С., Тарасов М.С., и др. Клиническая эффективность антиангиогенной терапии диабетического макулярного отека (2-летние результаты). *Российский офтальмологический журнал.* 2021; 14 (2): 42–9. [Fursova A., Derbeneva A., Tarasov M., et al. Clinical efficacy of antiangiogenic therapy for diabetic macular edema in real clinical practice (2-year results). *Russian ophthalmological journal.* 2021; 14 (2): 42–9 (in Russian)]. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2021-14-2-42-49>
27. Фурсова А.Ж., Дербенева А.С., Тарасов М.С., и др. Роль биомаркеров по данным оптической когерентной томографии — ангиографии в оценке результатов долгосрочной анти-VEGF терапии диабетического макулярного отека. *Российский офтальмологический журнал.* 2021; 14 (4): 95–102. [Fursova A., Derbeneva A., Tarasov M., et al. The role of optical coherence tomography angiography biomarkers in assessing the outcome of long-term anti-VEGF therapy of diabetic macular edema. *Russian ophthalmological journal.* 2021; 14 (4): 95–102 (in Russian)]. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2021-14-4-95-102>

Список сокращений/List of abbreviations: FRACTALKINE/CX3CL1 — Fms-related tyrosine kinase 3 ligand; EPO — erythropoietin; GROα/CXCL1 — growth-regulated protein; IFNα — interferon-α; IL1-RA — interleukin-1 receptor antagonist; IL-4 — interleukin-4; IL-6 — interleukin-6; IL-7 — interleukin-7; IL-8/CXCL8 — interleukin-8 / chemokine (C-X-C motif) ligand-8; IL-10 — interleukin-10; IL-15 — interleukin-15; IL-18 — interleukin-18; IP-10/CXCL10 — interferon-inducible protein-10 / chemokine (C-X-C motif) ligand-10; MCP-1/CCL2 — monocyte chemoattractant protein-1; MDC/CCL22; MIP-1β/CCL4; PDGF-AA — platelet-derived growth factor-AA; VEGF-A — vascular endothelial growth factor-A.

Вклад авторов в работу: А.Ж. Фурсова — концепция и дизайн исследования, научное редактирование, финальная подготовка статьи к публикации; А.С. Дербенева — сбор, обработка данных, написание текста, редактирование; О.С. Кожевникова, Д.В. Телегина, В.А.DEVYATKIN — выполнение лабораторных исследований, анализ и статистическая обработка данных.

Author's contribution: A.Zh. Fursova — concept and design of the study, scientific editing, final preparation of the article for publication; A.S. Derbeneva — data collection, processing, text writing, editing; O.S. Kozhevnikova, D.V. Telegina, V.A. Devyatkin — performance of laboratory researches, analysis and statistical processing of data.

Поступила: 14.12.2022. Переработана: 12.01.2023. Принята к печати: 12.01.2023

Originally received: 14.12.2022. Final revision: 12.01.2023. Accepted: 12.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

¹ ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», ул. Немировича-Данченко, д. 130, Новосибирск, 630087, Россия

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Красный проспект, д. 52, Новосибирск, 630091, Россия

Анжелла Жановна Фурсова — д-р мед. наук, заведующая офтальмологическим отделением¹, заведующая кафедрой офтальмологии²

Анна Сергеевна Дербенева — врач-офтальмолог¹, ассистент кафедры офтальмологии²

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» СО РАН, пр-т Лаврентьева, д. 10, 630090, Новосибирск, Россия

Оюна Суранзановна Кожевникова — ведущий научный сотрудник

Дарья Викторовна Телегина — научный сотрудник

Василий Александрович Девяткин — научный сотрудник

Для контактов: Анжелла Жановна Фурсова,
anzhellafursova@yandex.ru

¹ Novosibirsk State Regional Hospital, 130, Nemirovich-Danchenko St., Novosibirsk, 630087, Russia

² Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia

Anzhella Zh. Fursova — Dr. of Med. Sci., head of the ophthalmological department¹, head of chair of ophthalmology²

Anna S. Derbeneva — ophthalmologist¹, assistant of chair of ophthalmology²

Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, pr. Lavrentiev, 106, Novosibirsk, 30090, Russia

Ouna S. Kozhevnikova — leading researcher

Daria V. Telegina — researcher

Vasily A. Devyatkin — researcher

Contact information: Anzhella Zh. Fursova,
anzhellafursova@yandex.ru