

УДК 617.735–002–02:616.379–008.64:617.747–073.97

Результаты исследования уровня нейротрофического фактора головного мозга — BDNF в стекловидном теле у больных пролиферативной диабетической ретинопатией.

А. А. Путиенко, д-р мед. наук, Элхадж Эмхамед Али, Е. В. Ковалева

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

E-mail: alputienko@yandex.ru

Вступ. Розвиток неврпатії зорового нерва діабетичного генезу на даний час пов'язують з дисфункцією нейротрофічних факторів, зокрема, мозкового нейротрофічного фактора (BDNF), оскільки він володіє значними нейропротекторними властивостями в захисті гангліозних клітин сітківки та їх аксонів. Останніми дослідженнями встановлено, що його вміст в плазмі крові та сльозній рідині у хворих на цукровий діабет знижений як при непроліферативній, так і проліферативній стадіях, але в останньому випадку — в значно більшому ступені. Рівень цього фактора в скловидному тілі у хворих на проліферативну діабетичну ретинопатію (ПДРП), яким виконували інтравітреальні втручання, вивчався деякими авторами на невеликій кількості спостережень.

Мета: вивчити залежність між рівнем BDNF в скловидному тілі у хворих ПДРП та деякими електрофізіологічними показниками, що характеризують ступінь неврпатії зорового нерва. **Матеріал та методи.** Під наглядом було 70 хворих (70 очей) ПДРП с досягнутим анатомічним результатом лікування після інтравітреального втручання. На 35 очах був гемофтальм без епіретинальної тканини, на 28 — частковий або тотальний гемофтальм з епіретинальними мембранами та тракціонним відшаруванням сітківки. Жінок — 38, чоловіків — 32, середній вік — (55,7±12,7) років.

Результати. Середній рівень нейротрофічного фактора головного мозку (BDNF) в склоподібному тілі склав 12,56 SD (6,32) пг/мл. Вміст BDNF у хворих з гемофтальмом був достовірно вище, ніж у хворих з фракційним відшаруванням макули і тракційно-регіматогенним відшаруванням сітківки ($t=2,58, p=0,012$; $t=2,06, p=0,045$) відповідно. При цьому він залежав від типу діабету, наявності або відсутності гіпертонічної хвороби, ступеня компенсації цукрового діабету та виконання панретинальної лазерної коагуляції. При дослідженні зорових викликаних потенціалів (ЗВП) на спалахах 2 і 12 Гц латентність і амплітуда зубця P1 достовірно не відрізнялися щодо значень медіани (>11,42 пг/мл) рівня BDNF в склоподібному тілі. При цьому дослідження ЗВП на патерні 1° і 0° 15' показало достовірне зниження амплітуди хвилі P 100 у хворих з більш низьким вмістом BDNF ($t=2,13, p=0,037$; $t=2,97, p=0,004$). Між рівнем BDNF в склоподібному тілі і амплітудою хвилі P100 на патерні 1° ($R=0,6132, p=0,0397$) і 0° 15' ($R=0,6724, p=0,0232$) виявлений прямий сильний кореляційний зв'язок. У роботі також показано, що вміст BDNF в склоподібному тілі у пацієнтів з досягнутою після інтравітреальних втручань гостротою зору 0,01–0,09 був достовірно нижче в порівнянні з гостротою зору 0,3–1,0 ($t=2,13, p=0,039$).

Висновок. Таким чином, з розвитком проліферативних змін у хворих ПДРП рівень BDNF у вітреальній порожнині достовірно знижується, що може призводити до появи нейродистрофічних процесів у сітківці і зоровому нерві, тобто неврпатії. Показники патерні ЗВП певною мірою відображають вміст в тканинах ока і можуть бути використані в подальших дослідженнях, спрямованих на корекцію цієї сполуки у хворих на ПДРП.

Ключевые слова: пролиферативная диабетическая ретинопатия, нейротрофический фактор, стекловидное тело

Ключові слова: проліферативна діабетична ретинопатія, нейротрофічний фактор, скловидне тіло

Введение. Витреальная хирургия пролиферативной диабетической ретинопатии (ПДРП) прочно вошла в практику офтальмохирургов, показывая высокие анатомические результаты лечения — до

90 % случаев [9, 11]. При этом функциональные результаты лечения остаются существенно низкими

© А. А. Путиенко, Элхадж Эмхамед Али, Е. В. Ковалева, 2016

[3, 4, 9, 11]. По данным Gupta В. и соавт. [4], улучшения остроты зрения после интравитреальных вмешательств у больных с тракционной отслойкой макулы удаётся достичь не более чем в 70 % случаев, что может быть обусловлено выраженной исходной степенью нейродегенеративных изменений сетчатки и зрительного нерва

Развитие невротии зрительного нерва диабетического генеза в настоящее время связывают с дисфункцией нейротрофических факторов (в частности, мозгового нейротрофического фактора — BDNF), так как BDNF обладает выраженными нейротрофическими свойствами и играет важную роль в защите ганглиозных клеток сетчатки и их аксонов. BDNF экспрессируется в глиальных и преимущественно в нейрональных клетках и существенно влияет на развитие и функциональную активность нейронов зрительного пути [1, 2, 5, 10].

В настоящее время проведен ряд исследований по изучению уровня BDNF в плазме крови и слезной жидкости у больных сахарным диабетом и установлено, что его содержание снижено как при непролиферативной, так и пролиферативной стадиях заболевания, в последнем случае оно выражено в большей степени [1, 6, 7, 8].

В литературе имеются единичные работы, выполненные на небольшом количестве наблюдений и посвященные исследованию уровня этого фактора в стекловидном теле у больных ПДРП, которым выполняются интравитреальные вмешательства [2, 5].

Безусловный интерес представляет его роль в развитии невротии зрительного нерва диабетического генеза в зависимости от стадии прогрессирования ПДРП.

Цель исследования: изучить наличие зависимости между уровнем BDNF в витреальном содержимом у больных ПДРП и рядом электрофизиологических показателей, характеризующих степень невротии зрительного нерва.

Материал и методы исследования

Под наблюдением находились 70 больных (70 глаз) ПДРП с достигнутым положительным анатомическим результатом лечения после интравитреального вмешательства. Показанием к витрэктомии на 35 глазах (50,0 %) был гемофтальм без эпиретинальной ткани, на 28 глазах (40,0 %) частичный или тотальный гемофтальм с наличием эпиретинальных мембран и тракционной отслойкой сетчатки, которая распространялась на область макулы, на 7 глазах (10,0 %) тракционно-регатогенная отслойка сетчатки. Среди них было 38 женщин и 32 мужчины. Средний возраст пациентов составил 55,7 SD (12,7) года. Диабет I типа был отмечен в 12 случаях (17,1 %), II типа в 58 (82,9 %). Длительность диабета составила в среднем 18 SD (7,4) лет. В стадии компенсации, которую оценивали по суточному колебанию уровня глюкозы в крови, наличию или отсутствию глюкозы и белка в моче было 50 пациентов (71,4 %), в стадии субкомпенсации — 20 (28,6 %). Гипертонической

болезнью страдали 18 пациентов (31,4 %). Длительность пролиферативного процесса колебалась от 10 до 32 месяцев и составила в среднем 17,2 SD (5,8) месяца. Панретинальная лазерная коагуляция предварительно выполнялась на 62 глазах (88,6 %). Уровень ВГД колебался в пределах нормы на всех глазах.

Интравитреальные вмешательства выполнялись по обычной методике, после выполнения субтотальной витрэктомии, эпиретинальные мембраны удалялись максимально, при необходимости, для расправления сетчатки в полость глаза вводили стерильный воздух, выполняли панретинальную эндодиодную лазеркоагуляцию и эндокоагуляцию разрывов сетчатки. В группе пациентов только с гемофтальмом в 8 случаях (22,9 %) операция завершилась тампонадой стерильным воздухом, на 12 глазах (34,3 %) тампонадой 10 % газово-воздушной смесью перфторпропана и на 15 глазах (42,8 %) тампонадой 20 % смесью перфторпропана. В группе пациентов с тракционной отслойкой макулы в подавляющем большинстве случаев — 24 глаза (85,7 %) операция завершилась тампонадой 20 % газово-воздушной смесью перфторпропана и только в 4 случаях (14,3 %) 10 % смесью перфторпропана. У пациентов с тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки во всех случаях использовали 20 % газово-воздушную смесь перфторпропана.

Исходная острота зрения в группе пациентов с гемофтальмом распределялась от светоощущения до 0,05 и в большинстве случаев — 27 глаз (77,1 %) — составляла 0,01. У пациентов с тракционной отслойкой макулы также от светоощущения до 0,25 с наибольшей частотой встречаемости 0,01-0,03—20 глаз (71,4 %). У больных с тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки исходная острота зрения колебалась от светоощущения до 0,35. Степень невротии оценивали по уровню зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на вспышку 2 Гц и 12 Гц и на паттерны 1° и 0°15'. Уровень BDNF определяли в витреальном содержимом, которое получали в начале витрэктомии при закрытой ирригации, набирая в контейнер 0,2–0,3 мл материала для исследования. Полученные образцы хранили при температуре -20°C до проведения исследования. Содержание BDNF определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов для его количественного определения (производитель R&D SYSTEMS, США) согласно прилагаемой инструкции. Оценку результатов осуществляли фотометрически на микропланшетном иммуноферментном анализаторе Stat Fax 2100. Статистическую обработку осуществляли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA — версия 7.0. Сравнение проводили посредством коэффициента Стьюдента (t), непараметрического критерия χ^2 . При исследовании корреляционной зависимости использовали коэффициент Спирмена (R). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Уровень BDNF в витреальном содержимом у больных ПДРП составил 12,56 пк/мл со стандартным отклонением 6,32. Данные распределялись от 0 до 36,96 пк/мл. Медиана — 11,42 пк/мл.

Изучение уровня BDNF в витреальном содержимом у больных с I и II типами диабета достоверных отличий не выявило. Так, у пациентов с I типом диабета уровень BDNF составил 10,48 пк/мл, а со II

типом — 14,88 пк/мл, $t=1,78$, $p=0,079$. Содержание BDNF также достоверно не отличалось в зависимости от наличия или отсутствия гипертонической болезни 12,64 пк/мл и 13,89 пк/мл $t=0,69$, $p=0,571$ соответственно. При этом исследование уровня данного соединения в зависимости от длительности пролиферативного процесса показало, что у больных с пролиферативными изменениями длительностью сверх 18 месяцев уровень BDNF достоверно ниже и составляет 11,02 пк/мл против 15,01 пк/мл у больных с пролиферативным процессом в витреальной полости длительностью 18 месяцев и меньше $t=2,08$, $p=0,041$. В работе также было проанализировано содержание BDNF в стекловидном теле в зависимости от степени компенсации сахарного диабета. Так, у больных с субкомпенсированным диабетом содержание BDNF составило 11,91 пк/мл, а у больных с сахарным диабетом в стадии компенсации — 14,64 пк/мл, данные статистически не достоверны ($t=1,28$, $p=0,237$). Выполнение панретинальной лазеркоагуляции также достоверно не влияло на содержание этого соединения в витреальной полости $t=0,87$, $p=0,377$.

Данные об уровне BDNF в витреальном содержимом у больных ПДРП с гематофальмом, тракционной отслойкой макулы и тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки представлены в таблице 1.

Как видно из представленных в таблице данных, содержание BDNF в витреальном содержимом у больных с гематофальмом достоверно превышает уровень этого соединения в витреальном содержимом у больных как с тракционной отслойкой сетчатки, так и тракционно-регатогенной. Это

Таблица 1. Уровень BDNF в витреальном содержимом у больных с гематофальмом, тракционной отслойкой макулы и тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки

Группы больных	Среднее значение M (пк/мл)	Стандартное отклонение (SD)	Диапазон значений мин : макс (пк/мл)
Гематофальм (I)	14,67	5,89	6,05 : 30,45
Тракционная отслойка макулы (II)	10,58	6,66	0 : 36,96
Тракционно-регатогенная отслойка сетчатки (III)	9,09	3,09	5,38 : 14,36

Примечание: достоверность отличий: $pI - pII t=2,58$, $p=0,012$; $pI - pIII t= 2,06$, $p=0,045$; $pII - pIII t=0,26$, $p=0,795$

свидетельствует о том, что по мере развития пролиферативных изменений в сетчатке уровень BDNF в витреальной полости снижается, что может способствовать развитию нейродегенеративных процессов в сетчатке и зрительном нерве.

Изучение зависимости между рядом электрофизиологических показателей, характеризующих степень невротии зрительного нерва у больных ПДРП, которым выполнялись интравитреальные вмешательства, и уровнем BDNF в стекловидном теле представлены в таблицах 2 и 3.

Как следует из представленных в таблице 2 данных, у пациентов ПДРП, которым выполнялись интравитреальные вмешательства, латентность и амплитуда зубца P1 при исследовании ЗВП на вспышку 2 Гц достоверно не отличались относительно значений медианы (>11,42 пк/мл) уровня BDNF в стекловидном теле. При этом отмечена

Таблица 2. Показатели ЗВП на вспышку 2 и 12 Гц у больных ПДРП относительно медианы (11,42 пк/мл) уровня BDNF в стекловидном теле

Уровень BDNF в стекловидном теле, пк/мл	ЗВП на вспышку 2 Гц		ЗВП на вспышку 12 Гц	
	Латентность зубца P1, мс M (SD)	Амплитуда зубца P1, мкВ M (SD)	Латентность зубца P1, мс M (SD)	Амплитуда зубца P1, мкВ M (SD)
≤ 11,42, n=37	82,75 (5,06)	8,37 (5,16)	128,29 (16,56)	6,56 (2,01)
> 11,42, n=33	79,54 (10,34)	9,89 (4,12)	122,51 (11,10)	7,21 (1,46)
Достоверность отличия	$t=1,62$, $p=0,11$	$t=1,34$, $p=0,18$	$t=1,69$, $p=0,09$	$t=1,51$, $p=0,14$

Таблица 3. Показатели ЗВП на паттерн 1° и 0°15' у больных ПДРП относительно медианы (11,42 пк/мл) уровня BDNF в стекловидном теле

Уровень BDNF в стекловидном теле, пк/мл	ЗВП на паттерн 1°		ЗВП на паттерн 0°15'	
	Латентность волны P100, мс M (SD)	Амплитуда волны P100, мкВ M (SD)	Латентность волны P100, мс M (SD)	Амплитуда волны P100, мкВ M (SD)
≤ 11,42, n=37	101,38 (16,69)	4,48 (2,24)	112,05 (12,73)	3,96 (3,14)
> 11,42, N=33	94,09 (13,62)	6,19 (3,82)	105,39 (14,49)	6,53 (4,09)
Достоверность отличия	$t=1,98$, $p=0,051$	$t=2,13$, $p=0,037$	$t=2,05$, $p=0,045$	$t=2,97$, $p=0,004$

четкая тенденция к снижению амплитуды зубца P1 у больных с более низким содержанием BDNF. Показатели ЗВП на вспышку 12 Гц свидетельствовали о выраженных изменениях у исследуемых больных по сравнению с нормой как по латентности, так и амплитуде зубца P1. При этом достоверных различий по отношению к медиане уровня BDNF в стекловидном теле также не выявлено. Отмечена четкая тенденция к удлинению латентности и снижению амплитуды зубца P1 у больных с более низким содержанием BDNF в стекловидном теле при исследовании на вспышку 12 Гц. Таким образом, результаты исследований ЗВП на вспышку 12 Гц свидетельствуют о снижении ответа зрительной системы от сетчатки до зрительной коры у больных ПДРП, не отражая при этом уровень BDNF в стекловидном теле.

Исследование ЗВП на паттерн 1° не выявило достоверных различий в латентности волны P100 в случаях с содержанием BDNF в стекловидном теле относительно медианы. При этом значение амплитуды волны P 100 показало ее достоверное снижение у больных с более низким содержанием BDNF. Это свидетельствует о том, что снижение уровня BDNF в стекловидном теле связано со снижением функциональной активности нейронов сетчатки и всей проводящей зрительной системы до зрительной коры. Также отмечено существенное снижение амплитуды волны P100 на паттерн 0°15' в целом у пациентов с ПДРП, так же как и при исследовании на паттерн 1°. Выявлено достоверное снижение этого показателя в случаях с более низким содержанием изучаемого нейротрофического фактора в стекловидном теле относительно медианы. Эти данные говорят о выраженном снижении ответа зоны зрительной коры, ответственной за область макулы.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что одним из механизмов развития невропатии зрительного нерва у больных ПДРП является низкий уровень BDNF в тканях глаза.

Исследование связи между уровнем BDNF в стекловидном теле и показателями паттерн ЗВП позволило установить корреляцию между амплитудой волны P100 на паттерн 1° ($R=0,6132$, $p=0,0397$) и латентностью и амплитудой волны P100 на паттерн 0°15' ($R = -0,6068$, $p=0,0426$ и $R=0,6724$, $p=0,0232$). Таким образом, имеет место четкая закономерность: чем ниже уровень BDNF в стекловидном теле, тем ниже амплитуда волны P100 на паттерн 1° и выше латентность и ниже амплитуда волны P100 на паттерн 0°15'.

Динамика остроты зрения после интравитреальных вмешательств у больных ПДРП свидетельствовала о достоверном улучшении зрительных функций, количество глаз с остротой зрения до 0,09

уменьшилось с 56 до 26 ($\chi^2 = 28,15$, $p=0,000$). При этом у пациентов с гемофтальмом острота зрения была достоверно выше и составила 0,32 (0,24) против 0,1 (0,13) у больных с тракционной отслойкой макулы ($t=4,45$, $p=0,001$). Также отмечена достоверно более высокая острота зрения у больных с гемофтальмом — 0,32 (0,24) по сравнению с пациентами с тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки — 0,12 (0,07) ($t=2,25$, $p=0,030$). Достоверных отличий в остроте зрения у больных с тракционной отслойкой — 0,1 (0,13) и тракционно-регатогенной отслойкой сетчатки — 0,12 (0,07) не отмечено ($t=0,35$, $p=0,728$). Содержание BDNF в стекловидном теле при разных показателях остроты зрения, полученной после интравитреальных вмешательств у больных ПДРП, представлено в таблице 4.

Полученные данные свидетельствуют о достоверно более низком содержании BDNF в стекловидном теле у пациентов с остротой 0,01–0,09 по сравнению с остротой зрения 0,3–1,0. Таким образом, низкое содержание BDNF в тканях глаза, которое является одной из ведущих причин развития невропатии зрительного нерва, приводит к достоверно более низким функциональным результатам интравитреальных вмешательств у больных ПДРП.

Проведенные исследования позволяют заключить, что уровень BDNF в стекловидном теле у больных ПДРП составляет 12,56 пк/мл и снижается по мере прогрессирования пролиферативного процесса. У пациентов с длительностью пролиферативных изменений более 18 месяцев уровень этого соединения достоверно ниже. Прогрессирование пролиферативных изменений до развития тракционной отслойки макулы и тракционно-регатогенной отслойки сетчатки сопровождается достоверным снижением уровня BDNF в стекловидном теле. Между уровнем BDNF в стекловидном теле и показателями паттерн ЗВП имеет место сильная корреляционная связь, свидетельствующая о том, что показатели паттерн ЗВП в определенной степени отражают содержание этого соединения в тканях глаза.

Таблица 4. Содержание BDNF в стекловидном теле в зависимости от остроты зрения, полученной после интравитреальных вмешательств у больных ПДРП

	Острота зрения	Среднее значение М (пк/мл)	Стандартное отклонение (SD)	Диапазон значений мин : макс (пк/мл)
I	0,01–0,09, n = 25	10,83	4,67	0 : 20,05
II	0,1–0,25, n = 25	12,69	6,85	4,87 : 36,96
III	0,3–1,0, n = 20	14,57	7,07	4,58 : 30,45

Примечание: достоверность отличия pI — pII $t=1,12$, $p=0,268$; pI — pIII $t= 2,13$, $p=0,039$; pII — pIII $t=0,91$, $p=0,373$

Литература

1. **Гаврилова Н. А.** Влияние нейротрофического фактора мозга — BDNF на органотипические культуры сетчатки / Н. А. Гаврилова, Н. И. Ланевская, Л. М. Бакаева // Офтальмохирургия. — 2009. — № 1. — С. 36–42.
2. **Abu El-Asrar M.** Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes / M. Abu El-Asrar, L. Dralands, L. Missotten // Invest Ophthalmol and Vis Sci. — 2004. — V. 45. — № 8. — P. 2760–2766.
3. **Gupta A.** Six-month visual outcome after pars plana vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy with or without a single preoperative injection of intravitreal bevacizumab / A. Gupta, R. Bansal, V. Gupta. // Int Ophthalmol. — 2012. — V. 32. — № 2. — P. 135–144.
4. **Gupta B.** Visual and anatomical outcomes following vitrectomy for complications of diabetic retinopathy: the DRIVE UK study / B. Gupta, S. Sivaprasad, R. Wong Eye (Lond). — 2012. — V. 26. — № 4. — P. 510–516.
5. **Kaviarasan K.** Low blood and vitreal BDNF, LXA4 and altered Th1/Th2 cytokine balance are potential risk factors for diabetic retinopathy / K. Kaviarasan, M. Jithu, M. Arif Mulla // Metabolism. — 2015. — V. 64. — № 9. — P. 958–966.
6. **Nakagawa T.** Brain-derived neurotrophic factor regulates glucose metabolism by modulating energy balance in diabetic mice / T. Nakagawa, A. Tsuchida, Y. Itakura et al. // Diabetes. — 2000. — № 49. — P. 436–444.
7. **Ono M.** Brain-derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice / M. Ono, J. Ichihara, T. Nonomura et al // Biochem Biophys Res Commun. — 1997. — № 238. — P. 633–637
8. **Parrilla-Reverter G.** Effects of different neurotrophic factors on the survival of retinal ganglion cells after a complete intraorbital nerve crush injury: a quantitative in vivo study / G. Parrilla-Reverter, M. Agudo, P. Sobrado-Calvo // Exp Eye Res. — 2009. — № 89. — P. 32–41.
9. **Ratnarajan G.** Long-term visual and retinopathy outcomes in a predominately type 2 diabetic patient population undergoing early vitrectomy and endolaser for severe vitreous haemorrhage / G. Ratnarajan, F. Mellington, M. Saldanha // Eye (Lond). — 2011. — V. 25. — № 6. — P. 704–709.
10. **Seki M.** Involvement of brain-derived neurotrophic factor in early retinal neuropathy of streptozotocin-induced diabetes in rats: therapeutic potential of brain-derived neurotrophic factor for dopaminergic amacrine cells / M. Seki, T. Tanaka, H. Nawa et al. // Diabetes. — 2004. — V. 53. — № 9. — P. 2412–2419.
11. **Tadera M.** One year outcomes of pars plana vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy / M. Tadera, Kawamura H, M. Fujikawa et al. // Nihon Ganka Gakkai Zasshi. — 2014. — V. 118. — № 6. — P. 502–507.

Поступила 21.12.2015