

ЛОКАЛЬНАЯ И СИСТЕМНАЯ ПРОДУКЦИЯ 45 ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Нероев В.В., Зайцева О.В., Балацкая Н.В., Лазутова А.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Диабетическая ретинопатия (ДР) имеет многофакторную природу с участием множества цитокинов и факторов роста. Изучение уровней цитокинов в биологических жидкостях представляется актуальным с целью углубленного понимания патогенеза заболевания. Цель работы – сравнительный анализ системных (сыворотка крови (СК)) и локальных (стекловидное тело (СТ)) уровней 45 цитокинов у пациентов с осложненной пролиферативной ДР, а также при различных особенностях клинической картины заболевания. Содержание цитокинов протестировано в 53 пробах СК и 32 пробах СТ 53 пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа с тяжелым течением пролиферативной ДР. Использовали метод мультиплексного анализа на платформе xMAP в программе Luminex xPONENT 3.1, с помощью наборов 45 plex (ProcartaPlex, eBioscience, Австрия). В пределах уровней чувствительности тест-системы в значительном количестве тест-проб СК выявлялись 25, а СТ – 27 цитокинов. В пробах СТ средние уровни 7 медиаторов – IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, HGF, LIF и VEGF-A – оказались достоверно выше, чем в СК, что является доказательством их локальной интраокулярной продукции. Показаны корреляционные связи между содержанием в СТ ростового фактора VEGF-A и ряда цитокинов, в том числе участвующих в воспалительных реакциях, что свидетельствует о взаимосвязи звеньев патогенеза: воспаления и неоваскуляризации. Определены особенности интраокулярного содержания цитокинов при различных проявлениях диабетических изменений глаз. Показана связь гемофтальма с повышением IL-8 и IP-10, руброза радужки – с повышением LIF, активности пролиферативной ДР – с увеличением MCP-1, крайне тяжелых изменений – с ростом IL-6 и EGF. Тестирование цитокинов в биологических жидкостях информативно при изучении механизмов воспаления, неоваскуляризации, а также защитных реакций в патогенезе ДР.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, тракционная отслойка сетчатки, гемофтальм, руброз радужки, патогенез, цитокины, стекловидное тело, сыворотка крови

LOCAL AND SYSTEMIC PRODUCTION OF 45 CYTOKINES IN COMPLICATED PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY

Neroev V.V., Zaytseva O.V., Balatskaya N.V., Lazutova A.A.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. Diabetic retinopathy (DR) is multifactorial by its origin, involving many cytokines and growth factors. Studies of cytokine levels in biological fluids seem to be relevant for an in-depth understanding of

Адрес для переписки:

Балацкая Наталья Владимировна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ
105062, Россия, Москва,
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19.
Тел.: 8 (916) 976-61-27.
E-mail: balnat07@rambler.ru

Address for correspondence:

Balatskaya Natalia V.
Helmholtz National Medical Research
Center of Eye Diseases
105062, Russian Federation, Moscow,
Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19.
Phone: 7 (916) 976-61-27.
E-mail: balnat07@rambler.ru

Образец цитирования:

В.В. Нероев, О.В. Зайцева, Н.В. Балацкая,
А.А. Лазутова «Локальная и системная продукция
45 цитокинов при осложненной пролиферативной
диабетической ретинопатии» // Медицинская
иммунология, 2020. Т. 22, № 2. С. 301-310.
doi: 10.15789/1563-0625-LAS-1802

© Нероев В.В. и соавт., 2020

For citation:

V.V. Neroev, O.V. Zaytseva, N.V. Balatskaya, A.A. Lazutova
“Local and systemic production of 45 cytokines in complicated
proliferative diabetic retinopathy”, Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 2,
pp. 301-310. doi: 10.15789/1563-0625-LAS-1802

DOI: 10.15789/1563-0625-LAS-1802

the disease pathogenesis. The purpose of the work was a comparative analysis of 45 cytokines at systemic (blood serum (BS)) and local (vitreous humor (VH)) levels in the patients with complicated proliferative DR, showing various features of the clinical pattern. The content of cytokines was tested in 53 samples of BS and 32 samples of VH in 53 patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus with severe proliferative DR. We used the multiplex analysis technique by means of xMAP platform and Luminex xPONENT 3.1 program using 45-plex sets (Procarta Plex «eBioscience», Austria). 25 cytokines were detected at significant amounts in BS test samples, and 27 cytokines were revealed in VH specimens. Sensitivity limits of the test system allowed to find significantly higher levels of 7 cytokines (IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, HGF, LIF and VEGF-A) in VH samples, than in the BS, thus indicating to their local intraocular production. Correlations between the contents of VEGF-A growth factor and amounts of cytokines, including those involved in inflammatory reactions, are shown in VH, thus presuming the interrelation of pathogenetic components, i.e., inflammation and neoangiogenesis. The features of intraocular cytokine content were determined for various manifestations of diabetic ocular changes. Hemophthalmus has been shown to be associated with increased IL-8 and IP-10; iris rubeosis, with increase in LIF; proliferative DR activity was associated with higher MCP-1 levels, and extremely severe changes were related to increase in IL-6 and EGF. Testing of cytokines in biological fluids is informative when studying the mechanisms of inflammation, neoangiogenesis, and protective responses in pathogenesis of diabetic retinopathy.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic retinopathy, tractional retinal detachment, hemophthalmus, iris rubeosis, pathogenesis, cytokines, vitreous humor, blood serum

Введение

Диабетическая ретинопатия (ДР) — тяжелое позднее микрососудистое осложнение сахарного диабета (СД), одна из ведущих причин слепоты и слабовидения в мире среди лиц трудоспособного возраста. По заключению Всемирной организации здравоохранения ДР занимает 5-ое место в мире среди причин слабовидения и 4-ое — среди причин слепоты пациентов. 2,6% людей в мире слепы вследствие ДР [7].

В Российской Федерации общая заболеваемость ДР составляет 303,5 на 100 тысяч взрослого населения. ДР диагностирована у 7,8% людей с СД. В нозологической структуре инвалидности по зрению доля глазных осложнений СД достигает 8% [3].

Патогенез глазных микрососудистых изменений при СД крайне сложен и во многих аспектах остается до конца не изученным. Важная роль в нем отводится нарушению продукции цитокинов и факторов роста. Именно они являются биологически активными молекулами, опосредующими основные звенья патогенеза ДР — неоангиогенез, воспаление и, по последним данным, нейродегенерацию [31, 35].

Изучение цитокинов в биологических средах глаза представляется актуальным с целью более углубленного понимания патогенеза ДР. В литературе представлено значительное число публикаций, посвященных оценке локальной и системной продукции цитокинов при ДР, диабетическом макулярном отеке. Однако большинство работ посвящены исследованиям отдельных иммуномедиаторов, хемокинов и факторов роста. Было обнаружено значительное повышение уровней провоспалительных цитокинов IL-6

и IL-8 в стекловидном теле (СТ) по сравнению с сывороткой крови (СК), что свидетельствует о преимущественно локальном воспалении при пролиферативной диабетической ретинопатии (ПДР) [21], а также увеличение содержания IL-17, TNF α и вазопротрофиеративного фактора роста VEGF-Ав СТ и СК у пациентов с ПДР [25], повышенные уровни воспалительных цитокинов [28] и других активных молекул.

В то же время лишь в ограниченном числе работ сделан акцент на комплексном изучении панелей цитокинов (одновременном определении от 20 до 50 молекул в тест-пробе) и сопоставительном анализе локальных и системных уровней данных белков [11, 16, 33, 38]. В единичных публикациях представлена оценка уровней цитокинов в сопоставлении с особенностями клинической картины заболевания.

Комплексное исследование панели цитокинов с различными биологическими функциями в жидкостных средах глаза и крови представляется крайне актуальным с точки зрения систематического подхода к изучению молекулярных механизмов патогенеза заболевания.

Цель работы — провести сравнительный анализ системных (СК) и локальных (СТ) уровней 45 цитокинов: IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFN α , IFN γ , TNF β , TNF α , GRO- α , IP-10, SDF-1 α , MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin, GM-CSF, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, HGF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D у пациентов с осложненной ПДР, а также при различных особенностях клинической картины заболевания.

Материалы и методы

Обследованы 53 пациента с СД 1-го и 2-го типа с тяжелым течением ПДР. Среди них 37 женщин и 16 мужчин. Достоверных отличий по полу, возрасту, давности заболевания СД, уровню HbA1c выявлено не было.

Пациенты проходили стандартное офтальмологическое обследование в условиях отдела по изучению патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, включавшее визометрию (без коррекции, с максимальной коррекцией), тонометрию, биомикроскопию, осмотр глазного дна в условиях миопии, ультразвуковое А-В-сканирование, фундусфоторегистрацию (при возможности), оптическую когерентную томографию сетчатки (при возможности).

У всех пациентов этой группы, по данным клинического обследования, были выявлены рецидивирующий и/или организовавшийся гемофтальм и/или тракционная отслойка сетчатки как минимум на одном глазу на фоне тяжелых диабетических изменений сетчатки. Осложненный характер ПДР на обоих глазах был отмечен у 42 больных (79%).

На 32 глазах 32 пациентов проводилось хирургическое вмешательство, включавшее микроинвазивную субтотальную витрэктомию, швартэктомию, эндолазеркоагуляцию сетчатки, эндотампонаду силиконовым маслом по стандартной трехпортовой методике.

Забор крови с целью получения образцов СК осуществляли до каких-либо манипуляций. Пробы СТ забирались непосредственно в начале хирургического вмешательства. Забор биологических жидкостей проводился с согласия пациента после разъяснения целей исследования.

Иммунологические исследования проводились на базе отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России.

Все биопробы до исследования хранились при температуре -70°C . Концентрацию цитокинов определяли методом мультиплексного анализа на платформе xMAP (прибор MAGPIX, Luminex Corporation, США) в программе Luminex xPONENT 3.1, с помощью наборов 45 plex (ProcartaPlex, eBioscience, Австрия).

В пробах биологических жидкостей определяли содержание 45 цитокинов: IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFN α , IFN γ , TNF β , TNF α , GRO- α , IP-10, SDF-1 α , MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin, GM-CSF, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, HGF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Учитывая распределение части параметров, отличное от нормального, сравнительный анализ проводился непараметрическими методами. Показатели содержания цитокинов в биологических жидкостях группы пациентов представлены в формате: Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), где Me — медиана, $Q_{0,25}$ и $Q_{0,75}$ — квартили. В качестве дополнительной информации для оценки центральной тенденции, заключающейся в незначительной разнице медианы и среднего значения количественных признаков, данные также представлены в формате: $M \pm m$, где M — среднее значение, m — стандартная ошибка среднего значения. Для сравнения показателей двух независимых выборок применялась Z-аппроксимация U-критерия Манна—Уитни. Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического рангового r-коэффициента Спирмена, а критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Результаты

Содержание цитокинов определялось в 53 тест-пробах СК и 32 образцах СТ.

В пределах нижнего и верхнего уровней чувствительности тест-системы в значительном количестве тест-проб СК выявлялись 25 цитокинов: IL-2, IL-7, IL-8, IL-15, IFN α , TNF α , GRO- α , IP-10, SDF-1 α , MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, HGF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D. Уровни остальных медиаторов находились ниже предела минимальной чувствительности тест-системы либо выявлялись в небольшом количестве образцов, что делало невозможным проведение статистического анализа.

В образцах СТ в пределах нижней и верхней границ чувствительности метода определялись те же цитокины, а также IL-6, IL-1ra — всего 27 соединений.

Средние показатели цитокинов в образцах биологических жидкостей представлены в таблице 1.

В пробах СТ средние уровни 11 цитокинов — IL-2, SDF-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, PDGF-BB, PIGF-1 — оказались достоверно ниже, чем в СК.

В то же время показатели 7 цитокинов — IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, HGF, LIF и VEGF-A — в пробах СТ статистически значимо превышали таковые в СК, что свидетельствует об их локальной интраокулярной продукции.

Корреляционный анализ выявил достоверную положительную связь между уровнями рогового

фактора VEGF-A и IL-6, IFN α , BDNF, HGF, LIF, PDGF-BB, VEGF-D, а также отрицательную корреляционную связь с IP-10 в пробах СТ (табл. 2).

Сравнительный анализ системных уровней цитокинов (в СК) в подгруппах пациентов, сформированных в зависимости от особенностей клинической картины, осложненной ПДР, не выявил каких-либо достоверных отличий.

Однако были обнаружены определенные особенности интраокулярного содержания цитокинов при различных проявлениях диабетических изменений глаз (табл. 3).

Достоверных связей между содержанием цитокинов в СТ и формированием фиброзных пролиферативных мембран обнаружено не было.

С целью углубленного субанализа была выделена подгруппа глаз с крайне тяжелыми проявлениями осложненной ПДР: сочетанием гемофтальма и массивной фиброзной пролиферации, приводящей к тракционной отслойке сетчатки.

В данной подгруппе в СТ отмечены достоверно более высокие уровни IL-6 ($92,89 \pm 14,48$; Ме $82,87$ ($47,64-120,07$)) в сравнении с глазами с изолированным гемофтальмом либо тракционной отслойкой сетчатки ($80,70 \pm 35,19$; Ме $40,27$ ($25,77-77,21$)); $p = 0,02$; $U = 2,22$), а также уровни EGF ($6,38 \pm 0,74$; Ме $5,70$ ($4,19-7,18$)) и $9,81 \pm 1,17$; Ме $7,74$ ($5,76-13,45$) соответственно; $p = 0,01$; $U = 2,32$).

Обсуждение

Из протестированных 45 цитокинов в пределах нижнего и верхнего уровней чувствительности тест-системы в значительном количестве тест-проб СК выявлялись 25 молекул: IL-2, IL-7, IL-8, IL-15, IFN α , TNF α , GRO- α , IP-10, SDF-1 α , MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, HGF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D. В образцах СТ в пределах нижней и верхней гра-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ (пг/мл) В СТ И СК ПАЦИЕНТОВ С ОСЛОЖНЕННОЙ ПДР

TABLE 1. CONTENT OF CYTOKINES (pg/ml) IN VH AND BS OF PATIENTS WITH COMPLICATED PDR

Цитокины Cytokines	Уровни в СТ Levels in VH	Уровни в СК Levels in BS	Достоверность отличий Significance of differences
IL-2	$6,06 \pm 0,31$ $5,64$ ($5,27-7,09$) $n = 17$	$9,09 \pm 0,81$ $7,95$ ($6,45-10,22$) $n = 21$	$p = 0,002$ $U = -3,04$
IL-6	$70,32 \pm 9,23$ $69,41$ ($28,81-98,20$) $n = 31$	неприменимо* not applicable*	
TNF α	$8,81 \pm 1,22$ $7,83$ ($6,51-10,38$) $n = 7$	$8,95 \pm 0,82$ $8,53$ ($6,44-12,04$) $n = 10$	$p = 0,95$ $U = 0,06$
IFN α	$2,84 \pm 0,73$ $2,85$ ($1,36-4,32$) $n = 8$	$1,36 \pm 0,14$ $1,53$ ($0,99-1,53$) $n = 8$	$p = 0,22$ $U = 1,21$
IL-15	$8,55 \pm 1,92$ $5,99$ ($3,65-13,37$) $n = 7$	$19,73 \pm 7,55$ $8,52$ ($8,04-30,68$) $n = 8$	$p = 0,32$ $U = -0,98$
IL-1ra	$225,82 \pm 56,42$ $187,98$ ($111,22-321,46$) $n = 8$	неприменимо* not applicable*	
IL-7	$49,03 \pm 11,98$ $10,89$ ($3,44-69,82$) $n = 32$	$35,55 \pm 5,11$ $35,30$ ($1,97-58,35$) $n = 44$	$p = 0,64$ $U = 0,45$
Eotaxin	$19,48 \pm 1,97$ $17,42$ ($10,74-26,23$) $n = 32$	$226,51 \pm 24,47$ $209,97$ ($65,83-328,37$) $n = 53$	$p < 0,0001$ $U = -6,54$
GRO- α	$37,02 \pm 10,65$ $23,98$ ($15,85-43,24$) $n = 17$	$18,36 \pm 2,42$ $15,67$ ($9,79-23,94$) $n = 26$	$p = 0,10$ $U = 1,63$
IL-8	$141,02 \pm 36,38$ $75,43$ ($28,66-151,54$) $n = 27$	$15,72 \pm 3,77$ $20,43$ ($4,74-20,56$) $n = 8$	$p = 0,004$ $U = 2,87$

Цитокины Cytokines	Уровни в СТ Levels in VH	Уровни в СК Levels in BS	Достоверность отличий Significance of differences
IP-10	208,26±26,21 214,12 (78,27-279,38) n = 32	39,92±4,62 29,09 (18,83-43,96) n = 52	p < 0,0001 U = 6,01
MCP-1	2102,58±290,26 1850,25 (805,05-3393,03) n = 30	254,84±27,36 201,58 (79,06-405,34) n = 50	p < 0,0001 U = 6,19
MIP-1 α	14,99±1,79 15,34 (5,90-23,37) n = 27	25,95±4,21 17,77 (14,31-22,82) n = 45	p = 0,15 U = -1,41
MIP-1 β	58,59±9,16 72,72 (14,75-89,24) n = 22	189,98±14,98 198,79 (90,12-287,69) n = 43	p < 0,0001 U = -4,84
SDF-1 α	160,06±14,19 166,58 (102,06-218,05) n = 32	290,50±30,34 215,68 (160,30-302,72) n = 50	p = 0,002 U = -2,98
RANTES	27,63±1,91 28,33 (23,23-33,36) n = 14	194,64±20,73 184,47 (53,16-299,94) n = 50	p < 0,0001 U = -5,22
NGF- β	13,01±0,88 12,97 (10,84-14,93) n = 22	32,62±2,47 29,76 (24,84-34,32) n = 42	p < 0,0001 U = -5,83
BDNF	4,11±0,31 4,15 (2,69-5,01) n = 24	1284,25±160,76 843,42 (272,23-2154,70) n = 51	p < 0,0001 U = -6,94
EGF	8,09±0,75 6,65 (5,29-11,52) n = 30	72,07±9,59 53,21 (20,25-131,47) n = 42	p < 0,0001 U = -6,16
FGF-2	12,36±1,87 12,64 (7,02-18,02) n = 12	33,52±7,81 23,68 (10,01-52,19) n = 12	p = 0,02 U = -2,28
HGF	4662,72±581,37 4369,01 (2032,51-6326,35) n = 29	144,63±12,27 142,12 (69,86-194,55) n = 51	p < 0,0001 U = 7,39
LIF	64,17±7,83 51,95 (34,81-88,06) n = 32	11,49±1,11 10,80 (6,75-12,91) n = 35	p < 0,0001 U = 6,66
PDGF-BB	197,20±63,32 22,64 (13,23-357,75) n = 24	454,14±54,78 309,44 (189,86-517,51) n = 51	p < 0,0001 U = -4,02
PIGF-1	13,06±1,53 11,56 (7,62-7,52) n = 24	93,74±15,76 36,63 (26,44-139,61) n = 46	p < 0,0001 U = -5,63
SCF	15,22±1,34 14,29 (8,55-20,46) n = 32	17,66±3,54 11,83 (6,16-20,39) n = 34	p = 0,35 U = 0,92
VEGF-A	1575,23±198,75 1262,50 (771,62-2182,17) n = 30	377,78±49,73 260,44 (110,05-550,27) n = 46	p < 0,0001 U = 5,92
VEGF-D	8,70±1,03 7,34 (3,64-12,95) n = 30	8,64±1,12 9,17 (6,13-11,31) n = 8	p = 0,80 U = -0,25

Примечание. * – ниже предела минимальной чувствительности тест-системы либо в небольшом количестве образцов.

Note. *, below the minimum sensitivity limit of the test system or in a small number of samples.

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СВЯЗЬ МЕЖДУ ЦИТОКИНАМИ В СТ

TABLE 2. CORRELATION BETWEEN CYTOKINES IN VH

Цитокины Cytokines	IL-6	IFN α	BDNF	HGF	LIF	PDGF-BB	VEGF-D	IP-10
VEGF-A	r = 0,48 p < 0,05	r = 0,82 p < 0,05	r = 0,67 p < 0,05	r = 0,45 p < 0,05	r = 0,41 p < 0,05	r = 0,57 p < 0,05	r = 0,47 p < 0,05	r = -0,36 p < 0,05

ТАБЛИЦА 3. СРЕДНИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВ В СТ, ДОСТОВЕРНО ОТЛИЧАЮЩИЕСЯ В ПОДГРУППАХ С РАЗЛИЧНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ, ОСЛОЖНЕННОЙ ПДР

TABLE 3. AVERAGE CYTOKINES IN VH SIGNIFICANTLY DIFFERING IN SUBGROUPS WITH DIFFERENT FEATURES OF THE CLINICAL PICTURE COMPLICATED PDR

Цитокины Cytokines	Особенности клинической картины Features of the clinical picture		Достоверность отличий Significance of differences
	Гемофтальм - Hemophthalmus -	Гемофтальм + Hemophthalmus +	
IL-8	37,67 \pm 13,63 21,42 (5,79-79,39) (n = 7)	298,060 \pm 126,989 111,11 (43,81-300,71) (n = 20)	p = 0,01 U = -2,46
IP-10	140,37 \pm 42,63 114,79 (46,83-181,13) (n = 10)	279,37 \pm 48,92 244,06 (143,64-303,85) (n = 22)	p = 0,04 U = -2,05
SDF-1 α	115,65 \pm 24,57 102,06 (37,34-193,84) (n = 10)	180,25 \pm 15,91 174,78 (148,13-200,90) (n = 22)	p = 0,05 U = -1,97
RANTES	19,77 \pm 2,66 20,53 (15,52-24,02) (n = 4)	30,77 \pm 1,62 29,51 (27,80-34,63) (n = 10)	p = 0,01 U = -2,47
NGF- β	8,76 \pm 2,67 9,7 (5,74-10,84) (n = 3)	25,69 \pm 12,01 13,56 (11,93-16,06) (n = 19)	p = 0,04 U = -2,06
BDNF	3,03 \pm 0,31 2,62 (2,55-3,86) (n = 6)	5,94 \pm 1,51 4,58 (3,30-5,60) (n = 19)	p = 0,03 U = -2,23
	Рубеоз радужки - Iris rubeosis -	Рубеоз радужки + Iris rubeosis +	
LIF	77,77 \pm 11,43 62,64 (39,18-97,98) (n = 27)	33,18 \pm 5,58 40,02 (27,29-40,52) (n = 5)	p = 0,046 U = 1,97
	Активность ПДР минимальная PDR activity is minimal	Активность ПДР высокая PDR activity is high	
MCP-1	1972,92 \pm 698,37 864,40 (429,01-2740,42) (n = 14)	2696,76 \pm 370,38 2253,18 (1740,70-3698,27) (n = 16)	p = 0,04 U = -2,01

ниц чувствительности метода определялись те же цитокины, а также IL-6, IL-1ra — всего 27 соединений.

Более высокие показатели IL-8, IP-10, MCP-1, HGF, LIF и VEGF-A в пробах СТ в сравнении с СК свидетельствуют об их локальной интраокулярной продукции. Наиболее существенное различие отмечалось для IP-10, MCP-1

и VEGF-A. IL-6 выявлялся в достаточно высоких концентрациях в подавляющем большинстве проб СТ, тогда как в СК уровень этого цитокина был ниже предела минимальной чувствительности метода.

Наши результаты отчасти согласуются с данными ряда исследователей, которые также обнаружили высокие уровни IL-6, IL-8, MCP-1

и VEGF-A в СТ пациентов с ДР по сравнению с СК [5, 12, 38].

Высокая интраокулярная продукция перечисленных факторов, вероятно, отражает их активное участие в основных звеньях патогенеза ДР — неоангиогенезе, воспалении и, возможно, нейродегенерации.

VEGF-A (фактор роста эндотелия сосудов) является частью системы, отвечающей за компенсаторные возможности подачи кислорода к тканям в состоянии гипоксии, участвуя, таким образом, в патологическом ангиогенезе. Высокое содержание этого фактора роста в СТ в сравнении с СК свидетельствует в пользу его активной интраокулярной продукции перицитами, эндотелием сосудов, мюллеровскими и ганглиозными клетками [14] и участия в ангиопротеративном звене патогенеза ПДР [9, 24, 30, 39].

Повышенный синтез HGF (фактор роста гепатоцитов) в СТ также может отражать его роль в процессе внутриглазной пролиферации. Известно, что HGF является сильным митогеном для гепатоцитов, стимулирует пролиферацию некоторых типов эпителиоцитов, а также клеток сосудистого эндотелия и меланоцитов. Он представляет собой специфичный для эндотелия фактор роста, который участвует в ангиогенезе [2]. В работах [26] также был обнаружен повышенный уровень HGF в СТ у пациентов с ДР в большей степени, нежели в СК, и сделан вывод о внутриглазном синтезе данного цитокина и его непосредственном влиянии на патогенез развития ПДР. Исследования Yu Y., Zhang J. и соавт. также показали повышенный уровень HGF в СТ у пациентов с ПДР [39].

Высокие интраокулярные уровни провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IP-10 и MCP-1, вероятно, отражают их участие в воспалительном звене патогенеза ПДР.

IL-6 — цитокин с выраженной провоспалительной активностью, синтезируется активированными макрофагами, Т- и В-лимфоцитами. Стимулирует пролиферацию тимоцитов, В-лимфоцитов, синтез белков острой фазы гепатоцитами, активирует предшественников цитотоксических лимфоцитов, гранулоцитов и макрофагов [1]. Предполагается, что IL-6 может увеличить проницаемость эндотелиальных клеток, модифицируя актиновые филаменты и изменяя форму эндотелиальных клеток [27].

IL-8 является одним из основных индукционных/провоспалительных хемокинов, относится к СХС-классу хемокинов, обеспечивает аттракцию нейтрофилов и лимфоцитов к очагу воспаления. Синтезируется клетками сосудистого эндотелия, активированным эпителием и фибробластами в очаге воспаления, а также

миелоидными клетками — моноцитами/макрофагами [19].

В многочисленных работах представлены доказательства повышения уровня IL-6 и IL-8 в СТ пациентов с ПДР, а также их связь с активностью процесса [4, 32].

Кроме того, в исследовании Capozzi M.E. и соавт. была показана связь повышенных уровней IL-8 в СТ у пациентов с более высокой степенью облитерации ретинальных сосудов [8].

Однако также имеются противоречивые данные. Например, в наблюдениях [35] уровень IL-6 в СТ был сопоставим в группе пациентов с ДР и контрольной группе без СД.

В расширенном исследовании [21] сделан вывод, что более высокие уровни IL-6 и IL-8 в СТ, чем в СК, свидетельствуют о преимущественно локальном воспалении при ПДР.

IP-10 (интерферон- γ -индуцированный белок 10), так же как и IL-8, является хемокином СХС-класса. Секретируется моноцитами, эндотелиальными клетками и фибробластами в ответ на продукцию IFN γ . Обладает плейотропными функциями, включая стимуляцию моноцитов, миграцию NK- и Т-клеток, регуляцию Т-клеток, созревание клеток-предшественников костного мозга, модуляцию экспрессии молекул адгезии [23]. В нескольких исследованиях сообщалось, что IP-10 является мощным ингибитором ангиогенеза и может оказывать ингибирующее действие на фиброз [20, 34].

MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1) относится к классу СС-хемокинов (β -хемокинов), привлекает в зону повреждения моноциты и макрофаги. Продуцируется большим количеством клеток, в частности активированными эндотелиоцитами, фибробластами, эпителиоцитами, гладкомышечными и мезангиальными клетками, астроцитами, моноцитами и микроглиальными клетками [6]. Является мощным индуктором ангиогенеза и фиброзной пролиферации [18].

Наши данные о достоверном повышении MCP-1 в СТ согласуются с исследованиями Schoenberger S.D. и соавт., показавшими высокие уровни IP-10 и MCP-1 в СТ пациентов с ПДР [30].

Однако в другом исследовании уровень MCP-1 в СТ больных с ПДР был понижен по сравнению с контролем без СД [39].

Часть работ показали высокий уровень IP-10 и MCP-1 в СК пациентов с ПДР [16, 17, 24, 29].

Гиперпродукция перечисленных провоспалительных факторов, обнаруженная в ходе нашего исследования, отражает активизацию реакций воспаления, лейкоцитарно-эндотелиальных взаимодействий. Эти механизмы способствуют

разрушению плотных контактов между эндотелиальными клетками, потере компетентности гематоретинального барьера [15].

Активная интраокулярная продукция LIF (лейкемия-ингибирующий фактор) может быть следствием компенсаторных реакций, в том числе тормозящих развитие нейродегенерации и неоангиогенеза. Этот гликопротеин, принадлежащий к семейству IL-6, является нейротропным фактором с противовоспалительными свойствами. Преимущественно экспрессируется в эндотелиальных клетках, а рецептор LIF экспрессируется в окружающих клетках, в том числе астроцитах сетчатки. Обладает нейротропным действием на сетчатку. В экспериментальном исследовании интравитреально вводили рекомбинантный человеческий LIF группе мышей с индуцированным диабетом. По результатам гистологического анализа после лечения LIF количество ганглиозных клеток сетчатки было значительно увеличено, а внутренний ядерный слой стал толще по сравнению с группой контроля – мышей с ДР, не получавших рекомбинантный человеческий LIF [37].

Также было обнаружено, что LIF обладает антиангиогенной активностью, ингибирует экспрессию и пролиферацию VEGF в астроцитах, побуждая их к дифференцировке и экспрессии GFAP, что противодействует их ответу на гипоксию [22].

Звенья патогенеза – неоангиогенез и воспаление – тесно связаны между собой, что подтверждается достоверной положительной связью между уровнями ростового фактора VEGF-A и IL-6, IFN α , BDNF, HGF, LIF, PDGF-BB, VEGF-D, а также отрицательной корреляционной связью с IP-10 в пробах СТ.

Наличие гемофтальма ассоциировалось с достоверно более высокими уровнями IL-8, IP-10, SDF-1 α , RANTES, NGF- β , BDNF. Из перечисленных соединений уровни SDF-1 α , RANTES, NGF- β , BDNF в среднем по группе были выше в СК, чем в СТ. Поэтому их повышение в СТ при гемофтальме отчасти можно связать с попаданием в полость глаза в составе крови.

В то же время повышенные уровни IL-8 и IP-10 при гемофтальме могут быть объяснены только участием этих провоспалительных хемокинов в патогенезе заболевания, в том числе развитии геморрагической активности, так как их содержание в СК в среднем по группе было ниже,

чем в СТ. Оба цитокина играют важную роль в воспалительном звене патогенеза заболевания. Активно обсуждается роль IL-8 в стимуляции ангиогенеза [19].

В глазах с рубцозом радужки уровень защитного противовоспалительного цитокина LIF оказался достоверно ниже. Вероятно, такая тяжелая клиническая картина заболевания, являющаяся следствием выраженной ишемии сетчатки, ассоциируется с дефицитом компенсаторных механизмов.

В случаях активной ПДР уровни хемокина MCP-1 в образцах СТ оказались достоверно выше, чем в глазах с минимальной активностью ПДР. Наши находки согласуются с результатами исследований Abu El-Asrar A.M. Авторы описывают локализацию MCP-1 в миофибробластах и эндотелиальных клетках сосудов пролиферативных мембран при ПДР и достоверное повышение уровней MCP-1 в СТ в подгруппе активной ПДР ($p = 0,0224$) [5]. Кроме того, группой исследователей Hernandez C., Segura R.M. и соавт. также был сделан вывод о связи повышения MCP-1 в СТ с активностью ПДР, что доказывает участие этого цитокина в патогенетических механизмах [17].

В подгруппе глаз с крайне тяжелой клинической картиной достоверное повышение IL-6 может быть связано с более активными реакциями воспаления. Повышение EGF (эпидермального фактора роста), возможно, отражает его участие в процессах пролиферации клеток [41].

Таким образом, наше исследование подтвердило участие в патогенезе ДР большого числа локально синтезируемых сигнальных молекул, опосредующих процесс воспаления, способствующих неоангиогенезу, повышению проницаемости сосудов, а также обладающих защитными функциями. Выявлены корреляционные взаимосвязи между факторами неоангиогенеза и воспаления.

Дальнейшие исследования активных молекул в тест-пробах СТ представляются действенным механизмом изучения патофизиологии ДР и разработки патогенетически ориентированных подходов к лечению, новых таргетных лекарственных препаратов. В частности, обсуждаются возможности анти-IL-8-терапии ДР [10, 13, 40], использование LIF для торможения развития ДР [37], а также иные направления.

Список литературы / References

1. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. Иммунология и аллергология. М.: Практическая медицина, 2006. 288 с. [Vorobyev A.A., Bykov A.S., Karaulov A.V. Immunology and allergology]. Moscow: Practical Medicine, 2006. 288 p.

2. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Искра А.И. Роль фактора роста гепатоцитов в регенерации печени // Фундаментальные исследования, 2014. Т. 7, № 1. С. 187-192. [Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Iskra A.I. Role of hepatocyte growth factor in liver regeneration. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2014, Vol. 7, no. 1, pp. 187-192. (In Russ.)]
3. Нероев В.В., Зайцева О.В., Михайлова Л.А. Заболеваемость диабетической ретинопатией в Российской Федерации // Российский офтальмологический журнал, 2018. Т. 11, № 2. С. 5-9. [Neroev V.V., Zaytseva O.V., Mikhailova L.A. Incidence of diabetic retinopathy in the Russian Federation according to Federal statistics. *Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2018, Vol. 11, no. 2, pp. 5-9. (In Russ.)]
4. Abu El-Asrar A.M. Role of inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.*, 2012, Vol. 19, no. 1, pp. 70-74.
5. Abu El-Asrar A.M., Struyf S., Kangave D., Geboes K., van Damme J. Chemokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative Vitreoretinopathy. *Eur. Cytokine Netw.*, 2006, Vol. 17, no. 3, pp. 155-165.
6. Barna B.P., Pettay J., Barnett G.H., Zhou P., Iwasaki K., Estes M.L. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in adult human non-neoplastic astrocytes is sensitive to tumor necrosis factor (TNF) or antibody to the 55-kDa TNF receptor. *J. Neuroimmunol.*, 1994, Vol. 50, no. 1, pp. 101-107.
7. Bourne R.R., Stevens G.A., White R.A., Smith J.L., Flaxman S.R., Price H., Jonas J.B., Keeffe J., Leasher J., Naidoo K., Pesudovs K., Resnikoff S., Taylor H.R.; Vision Loss Expert Group. Causes of vision loss worldwide, 1990-2010: a systematic analysis. *Lancet Glob. Health*, 2013, Vol. 1, no. 6, pp. 339-349.
8. Capozzi M.E., McCollum G.W., Cousins D.B., Penn J.S. Linoleic acid is a diabetes-relevant stimulator of retinal inflammation in human retinal muller cells and microvascular endothelial cells. *J. Diabetes Metab.*, 2016, Vol. 7, Iss. 12, 718. doi: 10.4172/2155-6156.1000718.
9. Crawford T.N., Alfaro I., Kerrison J.B., Jablon E.P. Diabetic retinopathy and angiogenesis. *Curr. Diabetes Rev.*, 2009, Vol. 5, no. 1, pp. 8-13.
10. Dai C., Jiang S., Chu C., Xin M., Song X., Zhao B. Baicalin protects human retinal pigment epithelial cell lines against high glucose-induced cell injury by up-regulation of microRNA-145. *Exp. Mol. Pathol.*, 2019, Vol. 106, pp. 123-130.
11. Dai Y., Wu Z., Wang F., Zhang Z., Yu M. Identification of chemokines and growth factors in proliferative diabetic retinopathy vitreous. *BioMed Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 486386. doi: 10.1155/2014/486386.
12. Elner S.G., Elner V.M., Jaffe G.J., Stuart A., Kunkel S.L., Strieter R.M. Cytokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Curr. Eye Res.*, 1995, Vol. 14, no. 11, pp. 1045-1053.
13. Farris R.A., Price E.T. Reverse translational study of fenofibrate's observed effects in diabetes-associated retinopathy. *Clin. Transl. Sci.*, 2017, Vol. 10, no. 2, pp. 110-116.
14. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J.N. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.*, 2003, Vol. 9, no. 6, pp. 669-676.
15. Funatsu H., Noma H., Mimura T., Eguchi S. Vitreous inflammatory factor and macular oedema. *Br. J. Ophthalmol.*, 2012, Vol. 96, no. 2, pp. 302-304.
16. Hang H., Yuan S., Yang Q., Yuan D., Liu Q. Multiplex bead array assay of plasma cytokines in type 2 diabetes mellitus with diabetic retinopathy. *Mol. Vis.*, 2014, Vol. 20, pp. 1137-1145.
17. Hernandez C., Segura R.M., Fonollosa A., Carrasco E., Francisco G., Simo R. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet. Med.*, 2005, Vol. 22, no. 6, pp. 719-722.
18. Hong K.H., Ryu J., Han K.H. Monocyte chemoattractant protein-1-induced angiogenesis is mediated by vascular endothelial growth factor-A. *Blood*, 2005, Vol. 105, no. 4, pp. 1405-1407.
19. Hull J., Ackerman H., Isles K., Usen S., Pinder M., Thomson A., Kwiatkowski D. Unusual haplotypic structure of IL8, a susceptibility locus for a common respiratory virus. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001, Vol. 69, no. 2, pp. 413-419.
20. Keane M.P., Belperio J.A., Arenberg D.A., Burdick M.D., Xu Z.J., Xue Y.Y. IFN-gamma-inducible protein-10 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via inhibition of angiogenesis. *J. Immunol.*, 1999, Vol. 163, no. 10, pp. 5686-5692.
21. Koskela U.E., Kuusisto S.M., Nissinen A.E., Savolainen M.J., Liinamaa M.J. High vitreous concentration of IL-6 and IL-8, but not of adhesion molecules in relation to plasma concentrations in proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmic Res.*, 2013, Vol. 49, no. 2, pp. 108-114.
22. Kubota Y., Hirashima M., Kishi K., Stewart C.L., Suda T. Leukemia inhibitory factor regulates microvessel density by modulating oxygen-dependent VEGF expression in mice. *J. Clin. Invest.*, 2008, Vol. 118, no. 7, pp. 2393-2403.
23. Lee E.Y., Lee Z.H., Song Y.W. CXCL10 and autoimmune diseases. *Autoimmun. Rev.*, 2009, Vol. 8, no. 5, pp. 379-383.
24. Li S., Fu X.A., Zhou X.F., Chen Y.Y., Chen W.Q. Angiogenesis-related cytokines in serum of proliferative diabetic retinopathy patients before and after vitrectomy. *Int. J. Ophthalmol.*, 2012, Vol. 5, no. 6, pp. 726-730.
25. Li Y., Zhou Y. Interleukin-17: The role for pathological angiogenesis in ocular neovascular diseases. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2019, Vol. 247, no. 2, pp. 87-98.
26. Malik T.G., Ahmed S.S., Gul R., Ayesha E. Comparative analysis of serum proangiogenic biomarkers between those with and without diabetic retinopathy. *J. Coll. Physicians Surg. Pak.*, 2018, Vol. 28, no. 9, pp. 686-689.

27. Murugeswari P., Shukla D., Rajendran A., Kim R., Namperumalsamy P., Muthukkaruppan V. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and eales' disease. *Retina*, 2008, Vol. 28, no. 6, pp. 817-824.
28. Nalini M., Raghavulu B.V., Annapurna A., Avinash P., Chandi V., Swathi N., Wasim. Correlation of various serum biomarkers with the severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2017, Vol. 11, Suppl. 1, pp. S451-S454.
29. Patel J.I., Saleh G.M., Hykin P.G., Gregor Z.J., Cree I.A. Concentration of haemodynamic and inflammatory related cytokines in diabetic retinopathy. *Eye*, 2008, Vol. 22, no. 2, pp. 223-228.
30. Schoenberger S.D., Kim S.J., Sheng J., Rezaei K.A., Lalezary M., Cherney E. Increased prostaglandin E2 (PGE2) levels in proliferative diabetic retinopathy, and correlation with VEGF and inflammatory cytokines. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2012, Vol. 53, no. 9, pp. 5906-5911.
31. Simo R., Hernandez C. Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2014, Vol. 25, no. 1, pp. 23-33.
32. Simo-Servat O., Hernandez C., Simo R. Usefulness of the vitreous fluid analysis in the translational research of diabetic retinopathy. *Mediators Inflamm.*, 2012, Vol. 2012, 872978. doi: 10.1155/2012/872978.
33. Suzuki Y., Nakazawa M., Suzuki K., Yamazaki H., Miyagawa Y. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion. *Jpn J. Ophthalmol.*, 2011, Vol. 55, no. 3, pp. 256-263.
34. Tager A.M., Kradin R.L., LaCamera P., Bercury S.D., Campanella G.S., Leary C.P., Polosukhin V., Zhao L.H., Sakamoto H., Blackwell T.S., Luster A.D. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2004, Vol. 31, no. 4, pp. 395-404.
35. Tsai T., Kuehn S., Tsiampalis N., Vu M.K., Kakkassery V., Stute G., Burkhard Dick H., Joachim S.C. Anti-inflammatory cytokine and angiogenic factors levels in vitreous samples of diabetic retinopathy patients. *PLoS ONE*, 2018, Vol. 13, no. 3, e0194603. doi: 10.1371/journal.pone.0194603.
36. Wang W., Lo A.C. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 6, E1816. doi: 10.3390/ijms19061816.
37. Yang X.F., Huang Y.X., Lan M., Zhang T.R., Zhou J. Protective effects of leukemia inhibitory factor on retinal vasculature and cells in streptozotocin-induced diabetic mice. *Chin. Med. J. (Engl.)*, 2018, Vol. 131, no. 1, pp. 75-81.
38. Yoshimura T., Sonoda K.H., Sugahara M., Mochizuki Y., Enaida H., Oshima Y., Ueno A., Hata Y., Yoshida H., Ishibashi T. Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS ONE*, 2009, Vol. 4, no. 12, e8158. doi: 10.1371/journal.pone.0008158.
39. Yu Y., Zhang J., Zhu R., Zhao R., Chen J., Jin J., Tian Y., Su S.B. The profile of angiogenic factors in vitreous humor of the patients with proliferative diabetic retinopathy. *Curr. Mol. Med.*, 2017, Vol. 17, no. 4, pp. 280-286.
40. Yu Z., Gong C., Lu B., Yang L., Sheng Y., Ji L., Wang Z. Dendrobium chrysotoxum Lindl. alleviates diabetic retinopathy by preventing retinal inflammation and tight junction protein decrease. *J. Diabetes Res.*, 2015, Vol. 2015, 518317. doi: 10.1155/2015/518317.
41. Zeng F., Harris R.C. Epidermal growth factor, from gene organization to bedside. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2014, Vol. 28, pp. 2-11.

Авторы:

Нероев В.В. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Зайцева О.В. — к.м.н., заместитель директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Балацкая Н.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Лазутова А.А. — клинический ординатор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Neroev V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Zaytseva O.V., PhD (Medicine), Deputy Director, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Balatskaya N.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Lazutova A.A., Clinical Resident, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Поступила 02.07.2019
Отправлена на доработку 13.09.2019
Принята к печати 19.09.2019

Received 02.07.2019
Revision received 13.09.2019
Accepted 19.09.2019