

ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Балацкая Н.В., Воробьева Е.П., Куликова И.Г., Андриюшин А.Е.

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

Резюме. Среди многочисленных факторов патогенеза возрастной макулярной дегенерации (ВМД) в последние годы особое внимание уделяют эндотелиальной дисфункции (ЭД), поскольку эндотелий сосудов является важнейшим элементом внутренней области гематоретинального барьера (ВГРБ), обеспечивающему иммунологический гомеостаз сетчатки. Изучение воспалительных маркеров активации эндотелия представляется актуальным с целью понимания механизмов развития заболевания, может способствовать разработке патогенетической терапии ранней и промежуточной стадий ВМД, мер вторичной профилактики ее осложнений. Цель – определение sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin и MCP-1/CCL2 в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) пациентов с начальной (AREDS2) и промежуточной (AREDS3) стадиями ВМД. Исследование проведено методом проточной цитометрии (СВА) (проточный цитометр BD FACS Canto II, США) с помощью панели, сконструированной из совместимых симплексных тест-систем FlowCytomix™ (Bender MedSystem GmbH, Германия) для определения sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin и MCP-1/CCL2, позволяющей осуществлять их одновременную детекцию, с обработкой данных в пакете FlowCytomix Pro v. 6.0 (BenderMed Systems GmbH, Германия). Выявлена тенденция к повышению уровня sVCAM-1 в СК пациентов группы с промежуточной ВМД по сравнению с нормой. При анализе системной продукции остальных маркеров не установлено различий между основными группами и возрастным контролем. В ходе исследования СЖ в группе AREDS2 обнаружено достоверное увеличение концентрации MCP-1/CCL2, sE-selectin ($p < 0,05$) с тенденцией к усилению локальной продукции растворимых ICAM-1 и P-selectin ($p = 0,05$) относительно нормы. В группе AREDS3 значимые сдвиги касались 3 факторов sICAM-1, sE-selectin и sP-selectin, содержание которых в СЖ пациентов превышало таковое в контроле более чем в 2,5, почти в 5 и 2 раза соответственно ($p < 0,05$). Выявлено преимущественно усиление локальной и в меньшей мере системной продукции маркеров, отражающее активированное состояние эндотелия. Полученные данные представляются важными, поскольку доказывают уча-

Адрес для переписки:

*Воробьева Елена Павловна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ
101000, Россия, Москва,
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19.
Тел.: 8 (909) 155-22-17.
E-mail: helen1996@list.ru*

Address for correspondence:

*Elena P. Vorobyova
Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases
14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya St
Moscow
101000 Russian Federation
Phone: +7 (909) 155-22-17.
E-mail: helen1996@list.ru*

Образец цитирования:

*Н.В. Балацкая, Е.П. Воробьева, И.Г. Куликова,
А.Е. Андриюшин «Значение оценки воспалительных
маркеров активации сосудистой стенки при
возрастной макулярной дегенерации» // Медицинская
иммунология, 2025. Т. 27, № 4. С. 863-872.
doi: 10.15789/1563-0625-SOA-2930*

*© Балацкая Н.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*N.V. Balatskaya, E.P. Vorobyova, I.G. Kulikova,
A.E. Andryushin "Significance of assessing the inflammatory
markers of vascular wall activation in age-related macular
degeneration", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 4, pp. 863-872.
doi: 10.15789/1563-0625-SOA-2930*

*© Balatskaya N.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-SOA-2930*

стие sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin, MCP-1/CCL2 в патогенезе заболевания и позволяют думать о компроментации гематоретинального барьера, необходимости дополнения курса терапии ВМД назначением препаратов ангиопротекторного, противовоспалительного действия и нуждается в дальнейшем изучении.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, дисфункция эндотелия сосудов, воспаление, маркеры, молекулы адгезии, хемокины

SIGNIFICANCE OF ASSESSING THE INFLAMMATORY MARKERS OF VASCULAR WALL ACTIVATION IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Balatskaya N.V., Vorobyova E.P., Kulikova I.G., Andryushin A.E.

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

Abstract. Among the numerous pathogenetic factors of age-related macular degeneration (AMD), special attention has been recently paid to endothelial dysfunction (ED), since the vascular endothelium is an important internal component of the the hemoretinal barrier (IBRB) providing immunological homeostasis of the retina. The study of inflammatory endothelial activation markers seems relevant in terms of understanding the mechanisms of disease development, potentially contributing to the development of pathogenetic therapy at early and intermediate stages of AMD as well as secondary prevention of its complications. The aim of the present: study was to determine sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin and MCP-1/CCL2 in blood serum (BS) and tear fluid (TF) of patients with initial (AREDS2) and intermediate (AREDS3) stages of AMD. The study was performed by flow cytometry (CBA) with BD FACS Canto II flow cytometer, USA), using a diagnostic panel based on compatible simplex Flow Cytomix™ test systems (Bender Med System GmbH, Germany) to determine sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin and MCP-1/CCL2 thus allowing their simultaneous detection followed by data processing in the FlowCytomix Pro v. 6.0 package (BenderMed Systems GmbH, Germany). We have revealed a tendency to increased serum sVCAM-1 in the AREDS3 group compared to the reference values. When studying tear fluid in the AREDS2 group, a significant increase in MCP-1, sE-selectin concentrations was found ($p < 0.05$), along with a tendency to increased local production of sICAM-1 and sP-selectin ($p = 0.05$) against normal levels. Significant shifts in the AREDS3 group concerned three 3 factors in tear fluid, i.e., sICAM-1, sE-selectin and sP-selectin, that exceeded control levels by 2.5, 5 and 2 times, respectively ($p < 0.05$). The obtained data are important because they presume a role of sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin, MCP-1/CCL2 in pathogenesis of the disorder and allows us to suggest a compromised state of blood retinal barrier, thus requiring supplementation of AMD therapy with angioprotectives, anti-inflammatory drugs, and needs further studies.

Keywords: age-related macular degeneration, vascular endothelial, dysfunction, inflammation, markers, adhesion molecules, chemokines

Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является одной из частых причин слепоты и слабовидения у старшей возрастной группы, характеризуется прогрессирующим поражением центральной фотоактивной области сетчатки, имеет тенденцию к неуклонному росту и распространению [23].

Патологический процесс при ВМД имеет, как правило, двусторонний характер: после появле-

ния заболевания вероятность вовлечения парного глаза составляет 10-15% в год [3].

Значительное снижение зрения вплоть до полной его потери наступает при развитии поздней стадии ВМД, варианты терапии которой очень ограничены и представлены антиангиогенными препаратами для борьбы с патологической неоваскуляризацией на глазном дне при влажной форме заболевания.

Лечение ингибиторами ангиогенеза является дорогостоящим, инвазивным (проводится в ре-

жиме повторных интравитреальных инъекций), и далеко не всегда приводит к положительным функциональным результатам [15].

В связи с этим в мире ведется активный поиск способов предотвращения прогрессирования ВМД на ранних этапах ее развития [13].

Возрастная макулодистрофия является мультифакторным заболеванием: помимо возраста, генетической предрасположенности, образа жизни, метаболических расстройств – главных факторов риска, в последнее время особое внимание уделяется тесной взаимосвязи ВМД с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) и ключевым механизмом их патогенеза – эндотелиальной дисфункцией (ЭД) [5, 9, 10].

В норме функционирование эндотелия осуществляются путем регуляции баланса противоположных процессов: тонуса сосудов (вазодилатации/вазоконстрикции), гемостаза (стимуляция/ингибирование факторов коагуляции и фибринолиза), местного воспаления (продукция анти- и провоспалительных молекул) [1].

При длительном действии гемодинамической перегрузки, окислительного стресса, цитокинемии происходит изменение ответа со стороны эндотелиоцитов с тенденцией к доминированию вазоспазма, гемокоагуляции и активации воспалительных механизмов [1, 22].

Основные факторы, отражающие нарушение противовоспалительной функции эндотелия сосудистой стенки, наиболее полно охарактеризованы при изучении патогенеза атеросклероза: в частности показано, что патологически измененный эндотелий продуцирует целый ряд эффекторных молекул, направленных на активацию и рекрутинг лейкоцитов, усиление их взаимодействия с эндотелиальной выстилкой и трансвазацию [22].

Значительное повышение концентраций макрофагального хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1/CCL2), растворимых молекул межклеточной, сосудистой адгезии (sICAM-1, sVCAM-1) и селектинов (sE-selectin, sP-selectin) обнаружены в крови пациентов с ССЗ, что, по данным имеющихся публикаций, отражает степень повреждения эндотелия и может рассматриваться в качестве маркеров прогрессирования патологического процесса в стенке сосуда [14, 24].

Проведение подобных исследований представляется также важным в аспекте сосудистой офтальмопатологии, поскольку эндотелий сосудов является важнейшим элементом нейроваскулярной единицы – структурно-функциональной основы внутренней области гематоретинального барьера (ВГРБ) (подобного гематоэнцефаличе-

скому), обеспечивающего изоляцию нейральной сетчатки от контактов с кровью [19].

Нарушение этого защитного механизма, по мнению Buschini E. и соавт., может привести к потере иммунной привилегии сетчатки, развитию воспалительного каскада и последующего повреждения нейронов [7].

Доказательства ослабления барьерных свойств ВГРБ уже на ранних стадиях ВМД представлены в работе Hudson N. и соавт. [18].

При патогистологическом исследовании *post mortem* глаз пациентов с сухой ВМД Schultz H. и соавт. обнаружено высокое содержание белков плазмы крови в сетчатке, что свидетельствовало о нарушении целостности ВГРБ и прямой связи с прогрессированием заболевания [20].

Изучение ЭД в патогенезе ВМД находится на начальном этапе: в доступной литературе найдена публикация, где приведены убедительные доказательства снижения активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), в сети ретинальных и хориоидальных сосудов глаз с ВМД [5].

В целом исследование продукции локальной (в слезной жидкости) и системной продукции (в крови) воспалительных факторов – маркеров дисфункции и хронического воспаления сосудистой стенки у пациентов с ВМД представляется перспективным и может оказать помощь в разработке патогенетической терапии ранней и промежуточной стадий заболевания, а также мер вторичной профилактики его осложнений.

Цель работы – исследование воспалительных маркеров активации эндотелия сосудистой стенки в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД.

Материалы и методы

Данное исследование одобрено положительно комитетом по этике ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (протокол № 53/3 от 8 апреля 2021 года).

На базе взрослого консультативно-поликлинического отделения и отдела иммунологии и вирусологии обследовано 58 человек в возрасте от 43 до 68 лет: среди них 19 мужчин (32,8%), 39 женщин (67,2%).

Согласно клинической классификации AREDS [4], пациенты были распределены на три группы.

I группу составили 26 человек с начальной ВМД (AREDS 2; средний возраст $53,2 \pm 11,5$ года), II – 14 больных с промежуточной стадией ВМД (AREDS 3; средний возраст $57,1 \pm 11,8$ года).

18 практически здоровых пожилых людей без офтальмопатологии вошли в группу возрастного контроля (AREDS1; группа риска, средний возраст $55,7 \pm 12,7$ года).

Критерии включения в исследование: возраст старше 40 лет; отсутствие изменений на глазном дне, признаки начальной или промежуточной стадии ВМД (твердые и мягкие друзы, пигментные миграции, локальные аваскулярные отслойки пигментного эпителия, фокусы «географической атрофии» без захвата фовеа); максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) выше 0,6; внутриглазное давление (ВГД) ниже 21 мм рт. ст.; начальные помутнения хрусталика, не являющиеся причиной снижения зрительных функций.

Критерии исключения из исследования: признаки поздней ВМД (хориоидальная неоваскуляризация (ХНВ), неоваскулярная отслойка пигментного эпителия, рубцовые изменения, «географическая атрофия» с захватом фовеа), офтальмохирургические вмешательства, другие заболевания глаз, являющиеся причиной снижения зрения; тяжелая системная сердечно-сосудистая патология, сахарный диабет, системные воспалительные, в т. ч. аутоиммунные заболевания.

Забор биологических жидкостей и последующее иммунологическое исследование проводилось после получения письменного информированного добровольного согласия пациентов.

Материалом иммунологических исследований служили образцы сыворотки крови (СК; $n = 58$) и слезной жидкости (СЖ; $n = 63$).

Забор биологических жидкостей осуществляли до каких-либо манипуляций, с согласия пациента после разъяснения целей исследования.

СЖ забиралась без стимуляции слезопродукции сухой стерильной пипеткой из нижнего конъюнктивального свода в объеме не менее 40 мкл.

Забор крови выполняли в утренние часы, натощак, из локтевой вены при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® без активатора свертывания; СК получали согласно стандартным методикам.

До проведения исследований образцы хранили при температуре -70°C .

Определение sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin и MCP-1/CCL2 в СК и СЖ выполнено методом проточной цитометрии (СВА) (проточный цитометр BD FACS Canto II, США) с помощью мультиплексной панели, сконструированной из совместимых симплексных тест-наборов Human FlowCytomix™ Simplex (Bender MedSystem GmbH, Германия), позволяющей осу-

ществлять одновременную детекцию аналитов, с обработкой данных в пакете FlowCytomix Pro v. 6.0 (BenderMed Systems GmbH, Германия).

Для конструкции мультиплексной панели растворимых молекул использованы наборы реагентов:

– Human VCAM-1 Flow Cytomix Simplex (BMS8232/2FF) (чувствительность 0,9 нг/мл; тип частиц B5).

– Human ICAM-1 Flow Cytomix Simplex (BMS8201FF) (чувствительность 5,3 нг/мл; тип частиц A11).

– Human MCP-1 Flow Cytomix Simplex (BMS8281FF) (чувствительность 2,2 пг/мл; тип частиц A7).

– Human E-selectin Flow Cytomix Simplex (BMS8205FF) (чувствительность 1,2 нг/мл; тип частиц A9).

– Human P-selectin Flow Cytomix Simplex (BMS8219/2FF) (чувствительность 1,2 нг/мл; тип частиц B4).

Оценку результатов выполняли с учетом пределов чувствительности теста. Всего обработано 58 тест-проб СК и 63 образца СЖ.

Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Сравнительный анализ параметров с распределением отличным от нормального выполнен параметрическими методами. Показатели концентраций изучаемых факторов в биологических жидкостях представлены в формате: Me (min; max), где Me – медиана, min – минимальное и max – максимальное значение в выборке. Для сравнения показателей двух независимых групп применялась Z-аппроксимация U-критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Концентрации sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin и MCP-1/CCL2 в тест-пробах СК и СЖ определяли методом мультиплексного анализа (СВА) на проточном цитометре BD FACS Canto II в программе BD FACS Diva (BD Biosciences, США) с обработкой данных в пакете FCAP Array (Soft Flow, США). Оценку результатов выполняли с учетом пределов чувствительности теста, для каждого определяемого аналита).

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 концентраций изучаемых факторов в биологических жидкостях представлены в формате: Me (min; max), где Me – медиана, min –

минимальное, и max – максимальное значение в выборке. Для сравнения показателей двух независимых групп применялась Z-аппроксимация U-критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Результаты

Содержание воспалительных факторов активации сосудистого эндотелия определялось и 58 тест-пробах СК и в 63 образцах СЖ у пациентов с ВМД и людей пожилого возраста без офтальмопатологии.

Результаты иммунологического исследования представлены в таблицах 1 и 2 и на рисунках 1, 2, 3.

Исследуемые факторы были выявлены в 100% образцов СК и СЖ.

При исследовании СЖ пациентов с ВМД обнаружено значительное увеличение содержания селектинов по сравнению с возрастным контро-

лем: так, в группе AREDS2 уровень локальной продукции sE-selectin составил 34,4 нг/мл (при минимуме 4,1 и максимуме 316 нг/мл) и практически в 4 раза превосходил значение нормы ($p < 0,05$) (табл. 1). Также в СЖ пациентов с начальной ВМД обнаружена тенденция к повышению концентрации sP-selectin до 28,9 нг/мл против контроля – 14,1 нг/мл.

Аналогичные сдвиги данных показателей, более выраженные, со статистически значимым ростом уровня sP-selectin, отмечались и в группе AREDS 3 ($p < 0,05$) (табл. 1).

Статистически значимой разницы в локальной продукции селектинов между группами ВМД не обнаружено; вместе с тем, как видно из таблицы 1, пределы диапазонов изменений концентраций (от минимума к максимуму) отличались: так, в СЖ пациентов группы AREDS 2 (с начальной ВМД) размах значений sE- и sP-selectin был намного шире (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ АКТИВАЦИИ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ВМД И ГРУППЫ РИСКА

TABLE 1. CONCENTRATION OF INFLAMMATORY FACTORS OF VASCULAR ENDOTHELIAL ACTIVATION IN THE TEAR FLUID OF AMD PATIENTS AND RISK GROUPS

Показатель Parameter	Основные группы Main groups Me min-max		
	Контроль Control	ВМД AMD	
	AREDS1 (группа риска) AREDS1 (risk group) (n = 23)	I AREDS2 (ранняя стадия) I AREDS2 (early AMD) (n = 26)	II AREDS3 (промежуточная стадия) II AREDS3 (intermediate AMD) (n = 14)
sP-selectin, нг/мл sP-selectin, ng/mL	14,13 (9,8-21,3)	28,9# (6,5-104,0)	28,8* (23,4-29,7)
sE-selectin, нг/мл sE-selectin, ng/mL	8,64 (2,3-18,1)	34,4* 4,1-316,0	43,0* (42,4-43,8)
MCP-1/CCL2, пг/мл MCP-1/CCL2, pg/mL	157,2 (83,9-357,0)	491* (104,8-1127,0)	302 (219-384)
sVCAM-1, нг/мл sVCAM-1, ng/mL	5,43 (0,92-14,00)	6,0 (1,1-35,2)	1,04 (0,94-1,90)
sICAM-1, нг/мл sICAM-1, ng/mL	9,8 (6,3-24,5)	22 # (7,4-159,0)	28,3* (25,9-30,8)

Примечание. n – количество протестированных проб СЖ в группе; * – достоверность различия в группах пациентов с ВМД по сравнению с контролем ($p < 0,05$); # – тенденция к различию в группах ВМД по сравнению с контролем.

Note. n, the number of tested TF samples in the group; *, the significance of the difference in the groups of patients with AMD compared with the control ($p < 0.05$); #, the tendency to the difference in the AMD groups compared to the control.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ АКТИВАЦИИ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ВМД И ГРУППЫ РИСКА

TABLE 2. THE CONTENT OF INFLAMMATORY FACTORS OF VASCULAR ENDOTHELIAL ACTIVATION IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH AMD AND RISK GROUPS

Показатель Parameter	Основные группы Main groups Me min-max		
	Контроль Control	ВМД AMD	
	AREDS1 (группа риска) AREDS1 (risk group) (n = 18)	I AREDS2 (ранняя стадия) I AREDS2 (early AMD) (n = 26)	II AREDS3 (промежуточная стадия) II AREDS3 (intermediate AMD) (n = 14)
sP-selectin, нг/мл sP-selectin, ng/mL	341 (242,0-454,8)	285 (242-397)	369,8 (352-388)
sE-selectin, нг/мл sE-selectin, ng/mL	65,7 (14,9-132,5)	89,6 (55-147)	97,6 (88,4-107,0)
MCP-1/CCL2, пг/мл MCP-1/CCL2, pg/mL	517 (228,0-853,7)	504 (142-698)	718 (541-895)
sVCAM-1, нг/мл sVCAM-1, ng/mL	640 (257,7-1460,0)	1461 (457-1468)	1243# (1026-1461)
sICAM-1, нг/мл sICAM-1, ng/mL	130 (37,4-280,0)	114,5 (114,5-258,5)	175,6 (53,8-297,0)

Примечание. n – количество протестированных проб СК в группе; # – тенденция к различию в группах ВМД по сравнению с контролем.

Note. n, the number of tested BS samples in the group; #, the tendency to the difference in the AMD groups compared to the control.

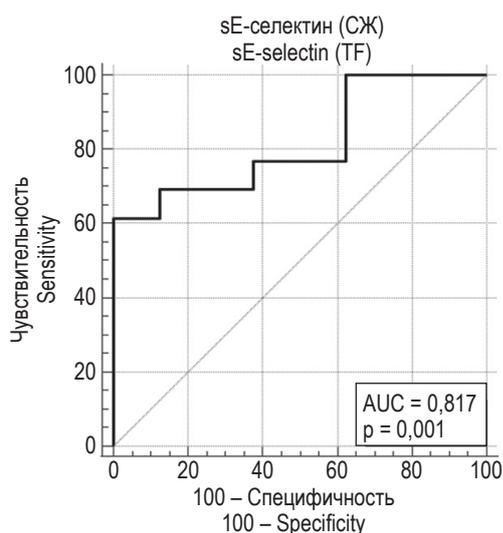


Рисунок 1. Результаты анализа информативности определения sE-selectin в СЖ на ранней и промежуточной стадии ВМД

Figure 1. The results of the analysis of the informative value of the determination of sE-selectin in TF at the early and intermediate stages of AMD

В ходе анализа содержания данных факторов в СК не выявлено достоверных сдвигов относительно возрастной нормы (табл. 2).

Как известно, молекулы селектинов представляют собой Ca^{2+} -зависимые гликопротеины и относятся к классу адгезивных белков, из которых P-selectine продуцируется и депонируется в мегакариоцитах (далее в α -гранулах тромбоцитов) и эндотелии, а синтез E-selectine является индуцибельным и происходит исключительно в эндотелиальных клетках.

Эти белки могут функционировать не только в качестве мембраносвязанных молекул на поверхности активированных клеток, но и при их отщеплении в виде растворимых форм, называемых sP-selectin и sE-selectin – продуктов протеолиза – фрагментов, в которых отсутствует трансмембранный участок.

При активации сосудистой стенки или повреждении ткани селектины опосредуют начальный этап вовлечения лейкоцитов в воспалительный процесс и взаимодействие с эндотелием [6].

Показано, что Е- и Р-селектин появляются на поверхности эндотелиальных клеток при напряжении сдвига, воздействии активных форм кислорода, цитокинов IL-1 β , TNF α , IFN γ и других медиаторов воспаления [16, 17].

Повышенное содержание адгезивных белков выявлено в крови пациентов с субклинической ишемической болезнью сердца и атеросклерозом сонных артерий: эти данные, по мнению Zhang J., указывают на то, что Е-selectin может быть вовлечен в ранние стадии атеросклеротического поражения сосудов [24].

В нашем исследовании значимо высокие концентрации Е- и Р-selectin, обнаруженные в СЖ пациентов, свидетельствуют о локальной активации сосудистого эндотелия на ранней и промежуточной стадиях заболевания, которая могла быть вызвана действием целого ряда провоспалительных медиаторов, которые активно секретируются интраокулярно при ВМД: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8/CXCL8, IFN γ , TNF α [2].

Нельзя исключить, что значимый рост уровня Р-selectin в СЖ пациентов с более выраженными патологическими изменениями на глазном дне, характерными для стадии AREDS 3, может быть связан с недостаточной активностью NO-синтазы [5] и косвенно согласуется с данными работы Chaitanya G.V. и соавт., показавших, что регуляция экспрессии этого селектина осуществляется оксидом азота, однако данное положение нуждается в дальнейших исследованиях [8].

МСР-1/ССL2-моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 является важнейшим регулятором активации, рекрутинга и трансвазации лейкоцитов, продуцируется клетками эпителиев, гладкой мускулатуры, моноцитами/макрофагами, фибробластами, астроцитами, микроглией и эндотелиальными клетками.

Данные многочисленных клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о его ключевом участии в поражении сосудистой стенки при атеросклерозе [11].

Усиление внутриглазной продукции МСР-1/ССL2 значительной степени связывают с влажной ВМД и проникающими в область неоваскуляризации лейкоцитами [12].

Статистически значимое повышение локальной концентрации МСР-1/ССL2 в группе AREDS 2 до 491 пг/мл ($p < 0,05$), обнаруженное в нашем исследовании, скорее всего является результирующей вкладом множества клеток: в пользу этого заключения свидетельствует и широкий размах значений показателя (табл. 1); хотя нельзя исключить, что при начальных изменениях в макулярной зоне основным продуцентом ука-

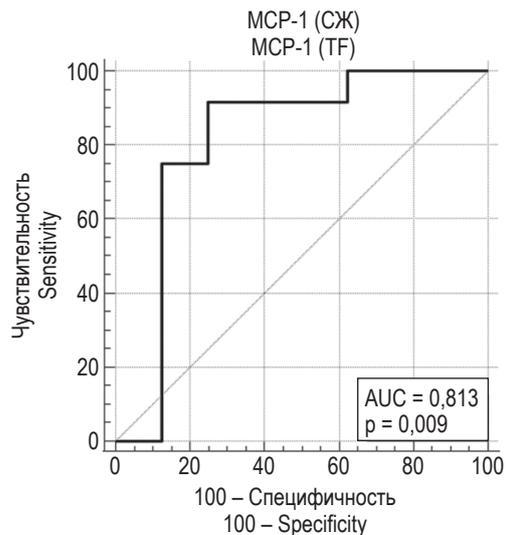


Рисунок 2. Результаты анализа информативности определения МСР-1/ССL2 в СЖ на ранней и промежуточной стадии ВМД

Figure 2. The results of the analysis of the informative value of the determination of MCP-1/CCL2 in TF at the early and intermediate stages of AMD

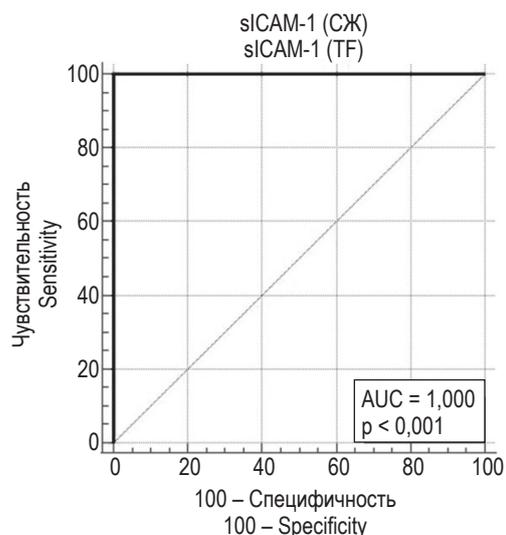


Рисунок 3. Результаты анализа информативности определения sICAM-1 в СЖ на ранней и промежуточной стадии ВМД

Figure 3. The results of the analysis of the informative value of the determination of sICAM-1 in TF at the early and intermediate stages of AMD

занного цитокина может быть активированный продуктами оксидативного стресса (ведущего патогенетического фактора ВМД) сосудистый эндотелий.

Содержание МСР-1/ССL2 в СК пациентов обеих клинических групп ВМД находилось в пределах установленной возрастной нормы (табл. 2).

Наряду с селектинами и медиаторами воспаления большое значение при ЭД и поражении сосудистой стенки имеют молекулы сосудистой и межклеточной адгезии – VCAM-1 и ICAM-1, посредством которых усиливается адгезия активированных лейкоцитов к эндотелиальным клеткам и последующий трансвазальный выход.

В настоящее время sICAM-1 вместе с IL-6 (интерлейкин-6) и CRP (С-реактивный белок), признаны молекулярными маркерами, связанными с атеросклерозом и его прогрессированием [21].

Обсуждение

При анализе данных нашей работы обнаружена тенденция к усилению локальной продукции sICAM-1 стадии AREDS2 относительно нормы и статистически значимое увеличение содержания этого белка в СЖ пациентов с промежуточной ВМД (AREDS3), в 3 раза превышающего таковое в группе возрастного контроля ($p < 0,05$) (табл. 2).

Усиление локальной продукции ICAM-1 можно объяснить воздействием многочисленных синтезируемых цитокинов, формирующих интраокулярную провоспалительную среду при ВМД и способных активировать сосудистый эндотелий: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, TNF α и пр. [2].

Сравнительный анализ результатов исследования основных групп с ВМД не выявил статистически значимых различий в локальных концентрациях sICAM-1, однако пределы диапазонов изменений продукции данного белка (от минимума к максимуму) отличались: так, в СЖ пациентов группы AREDS 2 (с начальной ВМД) размах значений sICAM-1 был намного шире (табл. 1).

Тенденция к повышению концентрации sVCAM-1 в СК пациентов, обнаруженная в группе AREDS 3, позволяет думать о подключении системных механизмов активации эндотелия на продвинутых стадиях заболевания (табл. 2).

Таким образом, в ходе исследования в СЖ пациентов со начальной и промежуточной ВМД были выявлены значимые изменения как ранних (sE- и sP-selectin, MCP-1/CCL2), так и поздних (sICAM-1) воспалительных маркеров активации эндотелия, свидетельствующие об участии локальных сосудистых механизмов в патогенезе заболевания.

Для определения возможной диагностической ценности определения sE-, sP-selectin, MCP-1/CCL2, и sICAM-1 в СЖ был проведен ROC-анализ построением операционных кривых и оценкой площади под ними, на основании которых были выявлены потенциальные локальные биомаркеры сосудистой активации при ранней ВМД (рис. 1, 2, 3).

Как видно из рисунков 1, 2, 3, площадь под кривой AUC для sE-selectin составила 0,817 ($p = 0,001$), MCP-1/CCL2 – 0,813 ($p = 0,009$), для sICAM-1 – 1,0 ($p < 0,001$).

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования представлена характеристика изменений воспалительных факторов активации сосудистой стенки, связанных с изменениями на глазном дне при начальной и промежуточной стадиях ВМД.

Полученные данные представляют важными, так как доказывают участие sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin, MCP-1/CCL2 в патогенезе заболевания, а повышение локальных концентраций этих белков позволяет думать о комприментации гематоретинального барьера, необходимости дополнения курса терапии ВМД назначением препаратов ангиопротекторного, противовоспалительного действия и нуждается в дальнейшем изучении.

Список литературы / References

1. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионарное кровообращение и микроциркуляция, 2017. Т. 16, № 1. С. 4-15. [Vasina L.V., Petrishchev N.N., Vlasov T.D. Endothelial dysfunction and its main markers. *Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation*, 2017, Vol. 16, no. 1, pp. 4-15. (In Russ.)]
2. Нероев В.В., Балацкая Н.В., Нероева Н.В., Кармокова А.Г., Рябина М.В., Куликова И.Г. Скрининг цитокинов в сыворотке крови и слезной жидкости при влажной и атрофической формах возрастной макулярной дегенерации // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 157-170. [Neroev V.V., Balatskaya N.V., Neroyeva N.V., Karmokova A.G., Ryabina M.V., Kulikova I.G. Screening of cytokines in blood serum and tear fluid in wet and atrophic forms of age-related macular degeneration. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 157-170. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-SOC-2351.

3. Пестрякова Я.Ф., Рыбченко А.А., Шабанов Г.А., Запорожец Т.С. Закономерности изменений биоэлектрической активности головного мозга при возрастной макулярной дегенерации // Тихоокеанский медицинский журнал, 2017. № 2. С. 26-29. [Pestryakova Ya.F., Rybchenko A.A., Shabanov G.A., Zaporozhets T.S. Patterns of changes in bioelectrical activity of the brain during age-related macular degeneration. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2017, no. 2, pp. 26-29. (In Russ.)] doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.26-29.
4. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, betacarotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS. *Arch. Ophthalmol.*, 2001, Vol. 119, pp. 1417-1436.
5. Bhutto I.A., Baba T., Merges C., McLeod D.S., Luttly G.A. Low nitric oxide synthases (NOSs) in eyes with age-related macular degeneration (AMD). *Exp. Eye Res.*, 2010, Vol. 90, no. 1, pp. 155-167.
6. Binder F.P.C., Ernst B. E- and P-selectin: differences, similarities and implications for the design of P-selectin antagonists. *Chimia (Aarau)*, 2011, Vol. 65, no. 4, pp. 210-213.
7. Buschini E., Piras A., Nuzzi R., Vercelli A. Age related macular degeneration and drusen: neuroinflammation in the retina. *Prog. Neurobiol.*, 2011, Vol. 95, no. 1, pp. 14-25.
8. Chaitanya G.V., Cromer W., Wells S., Jennings M., Mathis J.M., Minagar A., Alexander J.S. Metabolic modulation of cytokine-induced brain endothelial adhesion molecule expression. *Microcirculation*, 2012, Vol. 19, no. 2, pp. 155-165.
9. Chakravarthy U., Wong T.Y., Fletcher A., Piau E., Evans C., Zlateva G., Buggage R., Pleil A., Mitchell P. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.*, 2010, Vol. 10, 31. doi: 10.1186/1471-2415-10-31.
10. Clemons T.E., Milton R.C., Klein R., Seddon J.M., Ferris F.L. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology*, 2005, Vol. 112, no. 4, pp. 533-539.
11. Combadiere C., Potteaux S., Rodero M., Simon T., Pezard A., Esposito B., Merval R., Proudfoot A., Tedgui A., Mallat Z. Combined inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 abrogates Ly6C(hi) and Ly6C(lo) monocytes and almost abolishes atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Circulation*, 2008, Vol. 117, no. 13, pp. 1649-1657.
12. Du Z., Wu X., Song M., Li P., Wang L. Oxidative damage induces MCP-1 secretion and macrophage aggregation in age-related macular degeneration (AMD). *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2016, Vol. 254, no. 12, pp. 2469-2476.
13. Dunbar H.M.P., Behning C., Abdirahman A., Higgins B.E., Binns A.M., Terheyden J.H., Zakaria N., Poor S., Finger R.P., Leal S., Holz F.G., Schmid M., Crabb D.P., Rubin G.S., Luhmann U.F.O. Repeatability and discriminatory power of chart-based visual function tests in individuals with age-related macular degeneration: A MACUSTAR Study Report. *JAMA Ophthalmol.*, 2022, Vol. 140, no. 8, pp. 780-789.
14. Edlinger C., Lichtenauer M., Wernly B., Pistulli R., Paar V., Prodinge C., Krizanec F., Thieme M., Kammler J., Jung C., Hoppe U.C., Schulze P.C., Kretzschmar D. Disease-specific characteristics of vascular cell adhesion molecule-1 levels in patients with peripheral artery disease. *Heart Vessels*, 2019, Vol. 34, no. 6, pp. 976-983.
15. Horani M., Mahmood S., Aslam T.M. A review of macular atrophy of the retinal pigment epithelium in patients with neovascular age-related macular degeneration: What is the link? Part II. *Ophthalmol. Ther.*, 2020, Vol. 9, no. 1, pp. 35-75.
16. Hossain M., Qadri S.M., Liu L. Inhibition of nitric oxide synthesis enhances leukocyte rolling and adhesion in human microvasculature. *J. Inflamm. (Lond.)*, 2012, Vol. 9, 28. doi: 10.1186/1476-9255-9-28.
17. Huang R.B., Gonzalez A.L., Eniola-Adefeso O. Laminar shear stress elicit distinct endothelial cell E-selectin expression pattern via TNF α and IL-1 β activation. *Biotechnol. Bioeng.*, 2013, Vol. 110, no. 3, pp. 999-1003.
18. Hudson N., Celkova L., Hopkins A., Greene C., Storti F., Ozaki E., Fahey E., Theodoropoulou S., Kenna P.F., Humphries M.M., Curtis A.M., Demmons E., Browne A., Liddie S., Lawrence M.S., Grimm C., Cahill M.T., Humphries P., Doyle S.L., Campbell M. Dysregulated claudin-5 cycling in the inner retina causes retinal pigment epithelial cell atrophy. *JCI Insight*, 2019, Vol. 4, no. 15, e130273. doi: 10.1172/jci.insight.130273.
19. Nian S., Lo A.C.Y., Mi Y., Ren K., Yang D. Neurovascular unit in diabetic retinopathy: pathophysiological roles and potential therapeutical targets. *Eye Vis. (Lond.)*, 2021, Vol. 8, 15. doi: 10.1186/s40662-021-00239-1.
20. Schultz H., Song Y., Baumann B.H., Kapphahn R.J., Montezuma S.R., Ferrington D.A., Dunaief J.L. Increased serum proteins in non-exudative AMD retinas. *Exp. Eye Res.*, 2019, 186, 107686. doi: 10.1016/j.exer.2019.05.026.
21. Tzoulaki I., Murray G.D., Lee A.J., Rumley A., Lowe G.D.O., Gerald F., Fowkes R. C-reactive protein, interleukin-6, and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population: Edinburgh Artery Study. *Circulation*, 2005, Vol. 112, no. 7, pp. 976-983.

22. Vasan R.S. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation*, 2006, Vol. 113, pp. 2335-2362.

23. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., Wong T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*, 2014, Vol. 2, no. 2, pp. e106-e116.

24. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2022, Vol. 23, no. 2, 73. doi: 10.31083/j.rcm2302073.

Авторы:

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

Воробьева Е.П. — младший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Куликова И.Г. — биолог вирусологической-микробиологической лаборатории отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Андрюшин А.Е. — научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

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

Vorobyova E.P., Junior Researcher, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Kulikova I.G., Biologist, Virology-Microbiology Laboratory, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Andryushin A.E., Researcher, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Поступила 16.11.2023
Отправлена на доработку 13.02.2024
Принята к печати 13.11.2024

Received 16.11.2023
Revision received 13.02.2024
Accepted 13.11.2024