

УДК 617.735-007.281:617.731-007.23

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-3-32-35



Роль нейропептидов в развитии нейродегенерации сетчатки при диабетической ретинопатии

М.П. Ручкин^{1,2}, Е.В. Маркелова¹, Г.А. Федяшев^{1,2}¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия;² Приморский центр микрохирургии глаза, Владивосток, Россия

Цель исследования – определить сывороточный уровень белка S100b, мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и фактора роста нервов (NGF) у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и выявить характер взаимосвязей с нейродегенеративными изменениями сетчатки. **Материалы и методы.** Основную группу составили 80 пациентов с подтвержденным диагнозом сахарный диабет 2-го типа, контрольная группа включала 30 практически здоровых добровольцев. Всем исследуемым проведена оптическая когерентная томография (ОКТ) на аппарате RTVue-100 (Optovue, США) и микропериметрия на аппарате MAIA (CenterVue, Италия). Уровень белка S100b, BDNF и NGF в сыворотке крови определяли с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. **Результаты.** В основной группе уровень белка S100b был достоверно ($p = 0,001$) выше и составил 56,86 (31,12–104,02) пг/мл в сравнении с контрольной группой 45,19 (37,27–51,79) пг/мл. Анализ уровня мозгового нейротрофического фактора (BDNF) наоборот показал достоверное ($p = 0,02$) его снижение у представителей основной группы 27,38 (25,15–29,12) пг/мл (в контрольной группе 30,19 (27,38–32,14) пг/мл). Уровень фактора роста нервов (NGF) в основной группе был значимо ($p = 0,02$) выше 7,53 (5,63–10,54) пг/мл (в контрольной группе 5,96 (4,77–8,13) пг/мл). **Заключение.** В исследовании выявлен дисбаланс сывороточного уровня исследуемых нейробелков у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и признаками нейродегенерации сетчатки. Выявленные изменения требуют дальнейшего комплексного изучения с целью определения возможности их использования в качестве дополнительных критериев прогнозирования развития нейродегенерации сетчатки у данной категории пациентов.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, сахарный диабет, нейродегенерация, белок S100b, мозговой нейротрофический фактор, фактор роста нервов

Поступила в редакцию 29.04.22. Получена после доработки 08.04.22. Принята к печати 06.06.22

Для цитирования: Ручкин М.П., Маркелова Е.В., Федяшев Г.А. Роль нейропептидов в развитии нейродегенерации сетчатки при диабетической ретинопатии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;3:32–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-3-32-35

Для корреспонденции: Ручкин Михаил Петрович – заочный аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), заведующий диагностическим отделением Приморского центра микрохирургии глаза (690088, г. Владивосток, ул. Борисенко, 100Е); ORCID: 0000-0002-8966-3120; тел.: +7 (423) 203-03-03; e-mail: michaelr-n@mail.ru

Role of neuroproteins in retinal neurodegeneration in diabetic retinopathy

M.P. Ruchkin^{1,2}, E.V. Markelova¹, G.A. Fedyashev^{1,2}¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ² Primorskii center of eye microsurgery, Vladivostok, Russia

Aim. To evaluate the serum levels of S100b protein, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and nerve growth factor (NGF) in patients with type 2 diabetes mellitus, as well as to establish a correlation between the studied parameters and retinal neurodegeneration. **Methods.** In total, 80 patients with confirmed type 2 diabetes (experimental group) and 30 healthy volunteers (control group) were included in the study. All patients were examined using an RTVue-100 optic coherence tomography scanner (Optovue, USA) and a MAIA micropertimeter (CenterVue, Italy). The serum levels of S100b, BDNF, and NGF were determined by a sandwich-type solid-phase enzyme immunoassay using reagents produced by R&D Diagnostics Inc. (USA). **Results.** The serum level of S100b protein was found to be significantly ($p = 0.001$) higher in the experimental group, comprising 56.86 (31.12–104.02) pg/ml, compared to that in the control group of 45.19 (37.27–51.79) pg/ml. Conversely, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) showed a significant ($p = 0.02$) decrease to the level of 27.38 (25.15–29.12) pg/ml in the experimental group compared to the level of 30.19 (27.38–32.14) pg/ml in the control group. The serum level of nerve growth factor (NGF) in the experimental group was found to be 7.53 (5.63–10.54) pg/ml, thereby exceeding significantly ($p = 0.02$) the level of 5.96 (4.77–8.13) pg/ml in the control group. **Conclusions.** The results obtained indicate an imbalance in the serum levels of the studied neuroproteins in patients with type 2 diabetes mellitus and retinal neurodegeneration signs. The identified variations require further research in order to determine the feasibility of their use as additional criteria for predicting the development of retinal neurodegeneration in such patients.

Keywords: diabetic retinopathy, diabetes mellitus, neurodegeneration, S100b protein, brain-derived neurotrophic factor, nerve growth factor

Received 26 April 2022. Revised 17 May 2022. Accepted 30 May 2022

For citation: Ruchkin M.P., Markelova E.V., Fedyashev G.A. Role of neuroproteins in retinal neurodegeneration in diabetic retinopathy. *Pacific Medical Journal*. 2022;3:32–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-3-32-35

Corresponding author: Mikhail P. Ruchkin, MD, PhD-student Department of normal and pathological physiology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002.), head of diagnostic department, Primorskii Center of Microsurgery of Eye (100e, Borisenko Str., Vladivostok, 690088, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-8966-3120; phone: +7 (423) 203-03-03; e-mail: michaelr-n@mail.ru

Диабетическая ретинопатия (ДР) – сосудистое и нейродегенеративное заболевание, является одним из основных осложнений сахарного диабета (СД), повышает риск развития слепоты и слабоумия в несколько раз [1]. Нейрональные изменения, снижающие функциональную активность сетчатки, начинаются до клинических проявлений ДР и могут быть выявлены при помощи спектральной оптической когерентной томографии (ОКТ) [2]. Изменения метаболизма, вызванные СД, нарушают гомеостаз во всех тканях организма, в том числе и в структурах глаза [3]. Основными клетками, обеспечивающими нормальное функционирование и жизнедеятельность нейронов сетчатки, являются клетки Мюллера и микроглия, которые в физиологических условиях выделяют различные цитокины, факторы роста и нейробелки. Хроническая гипергликемия вызывает дисбаланс этих молекул, что индуцирует процессы нейродегенерации сетчатки [4].

Нейроспецифические белки – это группа веществ, которые выделяются преимущественно в нервной ткани и регулируют процессы жизнедеятельности нейронов [5]. Многочисленные исследования показывают, что нейротрофические факторы (НТФ) играют важную роль в защите нервной ткани при различных повреждениях. Механизм гибели нейронов зависит не только от выработки нейротоксических веществ, но и от дефицита нейротрофической поддержки [6]. Недостаток синтеза НТФ способствует гибели нервных клеток в результате некроза и запускает процессы апоптоза. Этот факт определяет актуальность изучения роли данных белков в нейродегенеративных процессах в сетчатке.

Цель исследования – определить сывороточный уровень белка S100b, мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и фактора роста нервов (NGF) у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и выявить характер взаимосвязей с нейродегенеративными изменениями сетчатки.

Материалы и методы

В основную группу исследования были включены 80 пациентов с верифицированным у эндокринолога СД 2-го типа, которые после первичного осмотра были разделены на две подгруппы: подгруппа I включала 40 пациентов без клинических признаков ДР, подгруппа II включала 40 пациентов с признаками, характерными для непролиферативной ДР. Распределение по полу и возрасту в основной группе: женщин 57,5% ($n = 46$), мужчин 42,5% ($n = 34$), средний возраст 60,8 года. Во всех случаях проводилось стандартное офтальмологическое обследование, которое включало визометрию, тонометрию, биомикроскопию и офтальмоскопию в условиях медикаментозного мидриаза. Контрольная группа состояла из 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с участниками основной группы. Все лица,

участвующие в исследовании, давали добровольное информированное согласие. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» от 16.12.2019 протокол № 4.

Для определения морфофункциональных признаков нейродегенерации сетчатки всем участникам исследования проводили ОКТ (аппарат RTVue-100, США) и компьютерную микропериметрию (аппарат MAIA, Италия).

Уровень белка S100b, BDNF и NGF в сыворотке крови определяли с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Полученные параметры выражали в пг/мл.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи программы SPSS Statistics 23 (IBM, США). Показатели представлены в виде медиан (Me), нижнего и верхнего квартилей ($Q_{25}; Q_{75}$). Сравнение количественных величин в несвязанных выборках осуществлялось с использованием U-критерия Манна – Уитни, для корреляционного анализа применяли ранговый коэффициент Спирмена. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

В основной группе уровень сывороточной концентрации белка S100b был достоверно ($p = 0,001$) выше и составил 56,86 (31,12–104,02) пг/мл в сравнении с контрольной группой 45,19 (37,27–51,79) пг/мл. Анализ уровня BDNF наоборот показал достоверное ($p = 0,02$) его снижение у представителей основной группы 27,38 (25,15–29,12) пг/мл (в контрольной группе 30,19 (27,38–32,14) пг/мл). Уровень NGF в основной группе был значимо ($p = 0,02$) выше 7,53 (5,63–10,54) пг/мл (в контрольной группе 5,96 (4,77–8,13) пг/мл).

При анализе ОКТ существенная ($p = 0,0001$) разница между группами была выявлена в объеме фокальных потерь ганглиозных клеток сетчатки. У пациентов с СД 2-го типа этот показатель составил 1,42 (0,44–2,56)%, в контрольной группе 0,09 (0,01–0,24)%. Функциональное состояние сетчатки у пациентов основной группы отличалось ($p = 0,005$) снижением средней светочувствительности до 25,52 (24,92–27,2) дБ (в контрольной группе 27,5 (27–28,2) дБ).

При сравнении между собой результатов подгруппы I и подгруппы II мы не обнаружили достоверных различий в инструментальных и лабораторных показателях. Анализ взаимосвязей этих показателей демонстрирует положительную корреляцию между объемом фокальных потерь ганглиозных клеток сетчатки и сывороточным уровнем белка S100b ($r = 0,442$, $p = 0,003$). Также положительно коррелировали между собой уровни белка S100b и NGF ($r = 0,371$, $p = 0,016$).

Обсуждение полученных данных

В настоящей работе показан высокий уровень белка S100b у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, который коррелировал с объемом фокальных потерь ганглиозных клеток сетчатки. Данный факт может указывать на высокую роль этого нейропептида в патогенезе нейродегенерации сетчатки. В других исследованиях также обнаружены высокие уровни S100b в сыворотке крови и в стекловидном теле у пациентов с диабетической ретинопатией, однако авторы не проводили взаимосвязи с морфофункциональными параметрами [7]. В литературе имеются данные, свидетельствующие о роли S100b в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [8]. В низких концентрациях белок действует как нейропротектор и повышает выживаемость нейронов и глии [5]. При сахарном диабете хроническая гипергликемия ведет к повышенной экспрессии рецепторов к конечным продуктам гликозилирования на клеточной поверхности. Это явление приводит к излишней активации микроглии, провоцирует гиперпродукцию провоспалительных цитокинов и активацию апоптоза нейронов [8].

НТФ – секретируемые ростовые факторы, регулируют процессы дифференцировки нейронов и их выживание, активируют рост аксонов и формирование синапсов. Все НТФ синтезируются в виде предшественников, которые в последующем под действием протеаз (плазмин, фурин, матриксные металлопротеиназы) конвертируются в зрелые формы [6]. Влияние НТФ на нервные клетки реализуется через тирозинкиназные рецепторы и рецептор p75NTR [9]. Взаимодействуя с первым типом рецепторов, НТФ повышают выживаемость, стимулируют рост и дифференцировку нейронов. При активации p75NTR возникает сигнал для запуска апоптоза. Зрелые формы НТФ обладают большей аффинностью к Trk-рецепторам, в то время как их предшественники, напротив, обладают большим сродством к p75-рецептору [9].

В 1995 г. Н. Hammes и соавт. [10] обнаружили, что у крыс с индуцированным диабетом экзогенное введение NGF предотвращает раннюю гибель ганглиозных нейронов, активацию мюллеровских клеток и развитие капиллярной гипоперфузии. Однако в последующих исследованиях было показано парадоксальное увеличение уровня NGF в сыворотке пациентов с СД 1-го типа, а также в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с ДР. Повышенные уровни NGF имели положительную корреляцию со стадией ДР и тяжестью СД [11]. В нашем исследовании мы выявили повышенный уровень NGF, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию на гиперпродукцию белка S100b. У данных пациентов также выявляется снижение активности матриксной металлопротеиназы-7, которая участвует в формировании зрелых форм NGF [12]. Нарушение баланса proNGF/NGF в этой ситуации может провоцировать апоптоз нейронов [9].

Следует отметить, что при сравнении между собой результатов у пациентов без клинических проявлений ДР и пациентов с признаками, характерными для не-пролиферативной ДР, мы не обнаружили достоверных различий в инструментальных и лабораторных показателях. Можно полагать, что процесс нейродегенерации сетчатки запускается до клинических проявлений ДР и на начальных этапах не зависит от сосудистых изменений. Вероятно, микрососудистые нарушения оказывают негативное влияние на нейроны сетчатки в более поздних стадиях ДР по мере нарастания капиллярной гипоперфузии.

В настоящем исследовании установлено снижение сывороточного уровня BDNF у пациентов с СД 2-го типа. Данные литературы по значению нейротрофина в патогенезе ДР довольно противоречивы. Так, X. Liu и соавт. [13] выявили высокий уровень BDNF в сыворотке крови у больных с ДР в сравнении с пациентами без СД [13]. В других исследованиях показаны низкие уровни BDNF в сыворотке крови и во влаге передней камеры у пациентов с ДР, которые коррелировали с тяжестью ДР [14]. Нейропротективные эффекты BDNF при интравитреальном введении у крыс с индуцированным СД дозозависимы и не достигаются при низких концентрациях из-за ограниченного количества Trk-рецепторов в нейронах сетчатки. При этом однократное введение BDNF повышает выживаемость ганглиозных клеток. Этот эффект продолжается всего несколько недель. Его можно пролонгировать при повторных инъекциях, но при этом повышается риск воспаления, катаракты и ишемии сетчатки [15].

Заключение

В исследовании установлен дисбаланс в сывороточном уровне S100b, BDNF и NGF у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и признаками нейродегенерации сетчатки. Выявленные изменения требуют дальнейшего комплексного изучения с целью определения возможности их использования в качестве дополнительных критериев прогнозирования развития нейродегенерации сетчатки у данной категории пациентов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Дедов И.И. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? *Терапевтический Архив*. 2019;91(10):4–13. [Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Dedov II. Epidemiology of diabetes mellitus in Russian Federation: what has changed over the past decade? *Terapevticheskij Arhiv*. 2019;91(10):4–13. In Russ.] doi: 10.26442/00403660.2019.10.000364
2. Ручкин М.П., Кувшинова Е.Р., Федяшев Г.А., Маркелова Е.В. Нейродегенерация сетчатки у пациентов с сахарным диабе-

- том 2 типа. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;3:62–4. [Ruchkin MP, Kuvshinova ER, Fedyashev GA, Markelova EV. Neurodegeneration of retina in patients with type 2 diabetes mellitus. *Pacific Medical Journal*. 2020;3:62–4. In Russ.] doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-62-64
3. Berbudi A, Rahmadika A, Tjahjadi N. Type 2 diabetes and its impact on the immune system. *Current diabetes reviews*. 2019;16(5):442–9. doi: 10.2174/1573399815666191024085838.
4. Grigsby J, Cardona S, Pouw C. The role of microglia in diabetic retinopathy. *Journal of ophthalmology*. 2014.2014:705783. doi: 10.1155/2014/705783
5. Маркелова Е.В., Зенина А.А., Кадыров Р.В. Нейропептиды как маркеры повреждения головного мозга. *Современные проблемы науки и образования*. 2018;5. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28099> (дата обращения: 01.06.2021). [Markelova EV, Zenina AA, Kadyrov RV. Neuropeptides as markers of brain damage. *Modern problems of science and education*. 2018;5. Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28099> (Accessed 01 June 2021). In Russ.]
6. Padmakumar S, Taha M, Kadakia E. Delivery of neurotrophic factors in treatment of age-related chronic neurodegenerative diseases. *Expert opinion on drug delivery*. 2020;17(3):323–40. doi: 10.1155/2014/705783
7. Asadova V, Gul Z, Buyukuysal R, Yalcinbayir O. Assessment of neuron-specific enolase, S100B and malondialdehyde levels in serum and vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *International Ophthalmology*. 2020;1:227–34. doi: 10.1007/s10792-019-01175-9
8. Altmann C, Schmidt H. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(1):110. doi: 10.3390/ijms19010110
9. Mohamed R, El-Remassy A. Imbalance of the nerve growth factor and its precursor: implication in diabetic retinopathy. *Journal of clinical & experimental ophthalmology*. 2015;06(05):1000483. doi: 10.4172/2155-9570.1000483
10. Hammes H, Federoff H, Brownlee M. Nerve growth factor prevents both neuroretinal programmed cell death and capillary pathology in experimental diabetes. *Molecular Medicine*. 1995;1(5):527–34.
11. Boss J, Singh P, Pandya H. Assessment of neurotrophins and inflammatory mediators in vitreous of patients with diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology and visual science*. 2017;5(12):5594–603. doi: 10.1167/iovs.17-21973
12. Ручкин М.П., Еремеева Л.В., Маркелова Е.В., Федяшев Г.А. Роль дисбаланса системы матричных металлопротеиназ в индукции нейродегенерации сетчатки при диабетической ретинопатии. *Современные проблемы науки и образования*. 2022;1. URL: <https://science-education.ru/article/view?id=31427> (дата обращения: 01.02.2022) [Ruchkin MP, Eremeeva LV, Markelova EV, Fedyashev GA. The role of imbalance in matrix metalloproteinases system in induction of neurodegeneration of retina in diabetic retinopathy. *Modern problems of science and education*. 2022;1 URL: <https://science-education.ru/article/view?id=31427> (Accessed 01 February 2022) In Russ.] doi: 10.17513/spno.31427
13. Liu X, Li Y, Liu Y, Luo Y, Wang D, Annex BH, Goldschmidt-Clermont PJ. Endothelial progenitor cells (EPCs) mobilized and activated by neurotrophic factors may contribute to pathologic neovascularization in diabetic retinopathy. *American Journal of Pathology*. 2010;176(1):504–15. doi: 10.2353/ajpath.2010.081152
14. Taslipinar Uzel AG, Ugurlu N, Toklu Y. Relationship between stages of diabetic retinopathy and levels of brain-derived neurotrophic factor in aqueous humor and serum. *Retina*. 2020;40(1):121–25. doi: 10.1097/IAE.0000000000002355
15. Seki M, Nawa H, Fukuchi T, Abe H, Takei N. BDNF is up-regulated by postnatal development and visual experience: quantitative and immunohistochemical analyses of BDNF in the rat retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Sciences*. 2003;44(7):3211–8. doi: 10.1167/iovs.02-1089