

## ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО УРОВНЯ ЭНДОТЕЛИНА-1 И ФАКТОРОВ ГИПОКСИИ HIF1 $\alpha$ И HIF2 $\alpha$ НА ТЕЧЕНИЕ РЕТИНАЛЬНЫХ ВЕНОЗНЫХ ОККЛЮЗИЙ

Мария Викторовна БУДЗИНСКАЯ, Александра Вадимовна ШЕЛАНКОВА,  
Анна Анатольевна ПЛЮХОВА, Элеонора Иосифовна РЕНДЕЛЬ

*НИИ глазных болезней*

*119021, г. Москва, ул. Россолимо, 11, корп. А, Б*

Проблема развития и течения ретинальных венозных окклюзий (РВО) актуальна на сегодняшний день. Этиология развития РВО многогранна и до конца не изучена. Одна из основных причин снижения зрения – развитие макулярного отека, главной проблемой в лечении которого является сложность прогнозирования повышения остроты зрения при сочетании заболевания с ишемией сетчатки. Одним из факторов риска развития ишемии является эндотелиальная дисфункция, важными маркерами которой служат эндотелин-1 и гипоксией индуцированные факторы (HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ). **Цель исследования** – оценить влияние системного уровня эндотелина-1 и факторов гипоксии на течение ретинальных венозных окклюзий. **Материал и методы.** Методом иммуноферментного анализа (ELISA) определяли содержание в сыворотке крови основных маркеров эндотелиальной дисфункции (эндотелина 1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ) у 157 пациентов с РВО, среди которых 69 человек страдали окклюзией центральной вены сетчатки и 88 – окклюзией ветви центральной вены сетчатки. Средний возраст пациентов 73,4  $\pm$  7,6 года. **Результаты и их обсуждение.** Выявлено статистически значимое повышение уровня эндотелина-1 у пациентов с отеком диска зрительного нерва ( $p = 0,018$ ). Статистически достоверных данных о влиянии на течение РВО факторов гипоксии HIF1 $\alpha$  и HIF2 $\alpha$  не обнаружено. **Заключение.** Оценка содержания основных маркеров эндотелиальной дисфункции может служить для понимания этиологии развития РВО и формирования правильной тактики лечения пациентов.

**Ключевые слова:** ретинальные венозные окклюзии, макулярный отек, эндотелиальная дисфункция, эндотелин-1, факторы гипоксии HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ .

Проблема развития и течения ретинальных венозных окклюзий (РВО) на сегодняшний день не теряет своей актуальности и вызывает особый интерес исследователей. Во всем мире более 16 миллионов пациентов страдают от развития окклюзий ретинальных вен [3, 9, 12]. Острая социальная значимость проблемы диктуется высоким процентом инвалидности пациентов после перенесенного заболевания. Этиология развития РВО многогранна и по сей день до конца не изучена. Одним из часто встречающихся осложнений РВО является макулярный отек [11], именно его развитие приводит к выраженному снижению остроты зрения у пациентов. Основной проблемой в лечении макулярного отека является сложность прогнозирования повышения остроты зрения, связанного с полной резорбцией интратетинальной жидкости, при сочетании заболевания с ишемией сетчатки [1].

Одним из факторов риска развития ишемии является эндотелиальная дисфункция [2, 6], которая приводит к нарушению целостности сосудистой стенки, повышению ее проницаемости и выходу компонентов крови в межклеточное пространство. Эндотелиальная дисфункция развивается при нарушении динамического равновесия ряда разнонаправленных процессов: тонуса сосудов (вазодилатация/вазоконстрикция), анатомического строения и ремоделирования сосудов, местного воспаления, процессов гемостаза и тромболизиса [13, 14]. Маркер эндотелиальной дисфункции эндотелин-1 (ЭТ-1) способствует развитию ретинальной ишемии [5, 8]. В физиологических концентрациях ЭТ-1 действует на эндотелиальные рецепторы, вызывая высвобождение факторов релаксации, а в более высоких активирует рецепторы на гладкомышечных клетках, стимулируя стойкую вазоконстрикцию. Еще од-

*Будзинская М.В.* – д.м.н., зав. отделом клинических исследований в офтальмологии, зам. директора по научной работе, e-mail: [m\\_budzinskaya@mail.ru](mailto:m_budzinskaya@mail.ru)

*Шеланкова А.В.* – младший научный сотрудник, e-mail: [shelankova\\_aleks@mail.ru](mailto:shelankova_aleks@mail.ru)

*Плюхова А.А.* – к.м.н., научный сотрудник, e-mail: [anna.plyukhova@gmail.com](mailto:anna.plyukhova@gmail.com)

*Рендель Э.И.* – к.м.н., зав. клинико-диагностической лабораторией, e-mail: [labgb@mail.ru](mailto:labgb@mail.ru)

ним маркером ЭД, приводящим к ишемии, может считаться гипоксией индуцированный фактор 1 $\alpha$  (HIF1) – транскрипционный фактор, обеспечивающий повышение экспрессии VEGF и рецепторов VEGF в ответ на гипоксию; в модельных экспериментах на животных, подверженных гипоксии, глобальной ишемии мозга и фокальной ишемии, показано увеличение экспрессии гена HIF1 $\alpha$  [4, 7, 10, 15]. Влияние эндотелина-1 и гипоксией индуцированных факторов (HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ) на развитие и течение РВО не изучены.

Цель исследования: оценить влияние системного уровня эндотелина-1 и факторов гипоксии на течение ретинальных венозных окклюзий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 157 пациентов с РВО, среди которых 69 человек страдали окклюзией центральной вены сетчатки и 88 – окклюзией ветви центральной вены сетчатки. Рецидивирующие серьезные инфекции в анамнезе и/или лечение активной системной инфекции на момент включения, наличие в анамнезе или клинические признаки диабетической ретинопатии или диабетический макулярный отек на любом глазу, инсульт, транзиторные ишемические атаки, инфаркт миокарда в течение 90 дней до включения в группу исследования являлись критериями исключения. Возраст пациентов варьировал от 50 до 80 лет (средний возраст 73,4  $\pm$  7,6 года).

Всем пациентам помимо стандартного офтальмологического обследования, включавшего визометрию, рефрактометрию, биомикроскопию и офтальмоскопию, проводили флуоресцентную ангиографию и оптическую когерентную томографию. Флуоресцентную ангиографию выполняли по стандартной методике на фундус-камере «FF 450 plus» (Карл Цейс, Германия) и HRA (Heidelberg Engineering, Германия), в качестве контрастного вещества внутривенно вводили 5 мл 10%-го флуоресцеина натрия (флуоресцида) (Новартис, Швейцария). Оптическую коге-

рентную томографию проводили на томографе «SPECTRALIS®» (Heidelberg Engineering, Германия) в стандартном режиме.

Содержание ЭТ-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ELISA). Образцы крови для определения уровня ЭТ-1 центрифугировали 20 мин при 2000 g при –4 °С, аликвотировали и помещали в морозильную камеру (–80 °С). Образцы крови для определения концентрации HIF1 $\alpha$  и HIF2 $\alpha$  инкубировали в течение двух часов при комнатной температуре, затем центрифугировали 20 мин при 1000 g и помещали полученную сыворотку в морозильную камеру (–80 °С). Исследование проводилось в дублях с использованием диагностических тест-систем фирм BIOMEDICA (Германия) (ЭТ-1) и Cloud-Clone Corporation (США) (HIF1 $\alpha$  и HIF2 $\alpha$ ). Величину экстинкции измеряли на спектрофотометре «StatFax-2100» (Awareness Technology, США) при длине волны 450 нм.

При статистической обработке данных для признаков, имеющих непараметрическое распределение, определяли медиану и межквартильный диапазон (Me [IQR]). Для оценки статистической значимости различий количественных признаков применяли критерий U Манна – Уитни, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали при  $p < 0,05$ .

В работе с пациентами соблюдали этические принципы, предьявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение показателей содержания ЭТ-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  отличалось от нормального, они составили соответственно 0,64 [3,67] фмоль/л, 0,56 [0,30] нг/мл и 0,52 [0,33] нг/мл. Различий в системном уровне исследуемых показателей в зависимости от локализации и типа окклюзии, рецидива заболевания, ишемии макулы и ишемии периферии не выявлено (табл. 1, 2). В то же время обнаружена статистически значимая зависимость

Таблица 1

Содержание ЭТ-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  в зависимости от локализации и типа окклюзии

| Показатель крови      | Локализация окклюзии | Средний ранг | $p$  | Тип окклюзии  | Средний ранг | $p$  |
|-----------------------|----------------------|--------------|------|---------------|--------------|------|
| ЭТ-1, фмоль/мл        | ОЦВС                 | 37,11        | 0,14 | Неишемический | 35,67        | 0,10 |
|                       | ОВЦВС                | 29,91        |      | Ишемический   | 27,97        |      |
| HIF1 $\alpha$ , нг/мл | ОЦВС                 | 33,00        | 0,80 | Неишемический | 30,23        | 0,14 |
|                       | ОВЦВС                | 34,52        |      | Ишемический   | 37,19        |      |
| HIF2 $\alpha$ , нг/мл | ОЦВС                 | 37,05        | 0,20 | Неишемический | 33,16        | 0,60 |
|                       | ОВЦВС                | 30,43        |      | Ишемический   | 30,64        |      |

Примечание. ОЦВС – окклюзия центральной вены сетчатки, ОВЦВС – окклюзия ветвей центральной артерии сетчатки.

Таблица 2

Содержание ЭТ-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  в зависимости от наличия ишемии макулы, рецидива заболевания отека ДЗН

| Параметр            | Содержание ЭТ-1, фмоль/л |       |       | Содержание HIF1 $\alpha$ , нг/мл |       |      | Содержание HIF2 $\alpha$ , нг/мл |       |       |
|---------------------|--------------------------|-------|-------|----------------------------------|-------|------|----------------------------------|-------|-------|
|                     | Средний ранг             |       | p     | Средний ранг                     |       | p    | Средний ранг                     |       | p     |
|                     | Есть                     | Нет   |       | Есть                             | Нет   |      | Есть                             | Нет   |       |
| Ишемия макулы       | 35,31                    | 32,10 | 0,70  | 43,13                            | 32,76 | 0,20 | 43,75                            | 30,89 | 0,068 |
| Рецидив заболевания | 24,67                    | 33,78 | 0,20  | 30,22                            | 34,59 | 0,50 | 40,64                            | 31,50 | 0,22  |
| Отек ДЗН            | 38,73                    | 27,65 | 0,018 | 35,52                            | 32,91 | 0,60 | 34,20                            | 31,41 | 0,55  |

концентрации ЭТ-1 от наличия отека ДЗН (см. табл. 2).

Эндотелин-1 (ЭТ-1) – пептид эндотелиального происхождения, обладающий мощными вазоконстрикторными и митогенными свойствами. Это самый сильный из всех эндогенных вазоконстрикторов, в 100 раз превышающий эффекты норадреналина, в 10 раз – ангиотензина II [1]. Доказано, что повышенный уровень эндотелина-1 в крови напрямую связан с увеличением частоты развития ишемии и инфарктов миокарда [6]. Помимо вазоконстрикторного действия, ЭТ-1 повышает сосудистую проницаемость, приводит к активации нейтрофилов и тучных клеток, стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов, усиливает индукцию экспрессии интегринов, увеличивающих миграцию и адгезию фибробластов и тромбоцитов. Развитие ретикулярной венозной окклюзии на фоне повышенного содержания в крови ЭТ-1, как показал наш анализ, протекает с выраженным отеком ДЗН, что возможно, может привести к развитию частичной атрофии зрительного нерва и необратимому снижению зрительных функций.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен анализ влияния системного уровня эндотелина-1 и факторов гипоксии HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  на течение РВО. Выявлено статистически значимое повышение содержания эндотелина-1 у пациентов с отеком диска зрительного нерва ( $p = 0,018$ ). При этом достоверных данных о влиянии на течение РВО факторов гипоксии HIF1 $\alpha$  и HIF2 $\alpha$  не обнаружено. Полученные результаты показывают необходимость дальнейшего изучения влияния эндотелиальной дисфункции на развитие и течение РВО, а также учета анализа показателей эндотелиальной дисфункции для понимания этиологии заболевания и формирования правильной тактики лечения пациентов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликт интересов отсутствует.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bradshaw S.E., Gala S., Nanavaty M., Shah A., Mwamburi M., Kefalas P. Systematic literature review of treatments for management of complications of ischemic central retinal vein occlusion // BMC Ophthalmol. 2016. 16. 104.
2. Cheung N., Klein R., Wang J.J., Cotch M.F., Islam A.F., Klein B.E., Cushman M., Wong T.Y. Traditional and novel cardiovascular risk factors for retinal vein occlusion: the multiethnic study of atherosclerosis // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008. 49. (10). 4297–4302.
3. Cugati S., Jie J.W., Rochtchina E., Mitchell P. Ten-year incidence of retinal vein occlusion in an older population: the blue mountains eye study // Arch. Ophthalmol. 2006. 124. (5). 726–732.
4. Ferrara N., Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor // Endocr. Rev. 1997. 18. 4–25.
5. Kida T., Flammer J., Oku H., Morishita S., Fukumoto M., Suzuki H., Konieczka K., Ikeda T. Suppressed endothelin-1 by anti-VEGF therapy is important for patients with BRVO-related macular edema to improve their vision // EPMA J. 2016. 7. (1). 18.
6. Kida T., Morishita S., Kakurai K., Suzuki H., Oku H., Ikeda T. Treatment of systemic hypertension is important for improvement of macular edema associated with retinal vein occlusion // Clin. Ophthalmol. 2014. 8. 955–958.
7. Marti H.H., Risau W. Systemic hypoxia changes the organ-specific distribution of vascular endothelial growth factor and its receptors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. 95. 15809–15814.
8. Matsuura A., Yamochi W., Hirata K.-I., Kawashima S., Yokoyama M. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression // Hypertension. 1998. 32. (1). 89–95.
9. McIntosh R.L., Rogers S.L., Lim L., Cheung N., Wang J.J., Mitchell P., Kowalski J.W., Nguyen H.P., Wong T.Y. Natural history of central retinal vein occlusion: an evidence-based systematic review // Ophthalmology. 2010. 117. (6). 1113.e15–1123.e15.

10. Monacci W.T., Merrill M.J., Oldfield E.H. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues // *Am. J. Physiol.* 1993. 264. C995-C1002.
11. Ozkaya A., Alkin Z., Yesilkaya C. Ranibizumab in macular edema secondary to retinal vein occlusion in a real life practice: a retrospective case series // *Beyoglu Eye J.* 2016. 1. 5–9.
12. Rogers S., McIntosh R.L., Cheung N., Lim L., Wang J.J., Mitchell P., Kowalski J.W., Nguyen H., Wong T.Y. The prevalence of retinal vein occlusion: pooled data from population studies from the United States, Europe, Asia, and Australia // *Ophthalmology.* 2010. 117. (2). 13–319 e311.
13. Salvatore S., Vingolo E.M. Endothelin-1 role in human eye: a review // *J. Ophthalmol.* 2010. 2010. 354645.
14. Stangos A.N., Petropoulos I.K., Pournaras J.A., Mendrinou E., Pournaras C.J. The vasodilatory effect of juxta-arteriolar microinjection of endothelin A receptor inhibitor in healthy and acute branch retinal vein occlusion minipig retinas // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010. 51. (4). 2185–2190.
15. Wang G.L., Jiang B.-H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. 92. 5510–5514.

## THE ROLE OF ENDOTHELIN-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ IN RETINAL VEIN OCCLUSION

**Mariya Viktorovna BUDZINSKAYA, Aleksandra Vadimovna SHELANKOVA,  
Anna Anatol'yevna PLYUKHOVA, Eleonora Iosifovna RENDEL**

*Scientific Research Institute of Eye Diseases  
119021, Moscow, Rossolimo str., 11, bldg. A, B*

The problem of development and course of retinal venous occlusions (RVO) is relevant for today. The etiology of development of the RVO is multifaceted, and has not been fully studied. One of the main reasons for the decline in vision is the development of macular edema. The main problem in the treatment of macular edema is the difficulty in predicting increased visual acuity when disease is combined with retinal ischemia. One of the risk factors for the development of ischemia is endothelial dysfunction, whose important markers are endothelin-1 and hypoxia-inducible factors (HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ). **Aim of the study** was to evaluate the effect of the systemic level of endothelin-1 and hypoxia factors on the course of retinal venous occlusions. **Material and methods.** Content of the main markers of endothelial dysfunction (endothelin-1, HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ ) was measured in 137 patients with RVO, among them 59 patients with central retinal vein occlusion and 78 – with central retinal vein branch occlusion. The average age of the patients was 73.35  $\pm$  7.6 years. The level of markers of endothelial dysfunction was determined in serum by ELISA. **Results and discussion.** A statistically significant increase in endothelin-1 content in patients with optic nerve edema ( $p = 0.018$ ) was found. There were no statistically significant data on the effect on the course of the RVO of hypoxia factors HIF1  $\alpha$  and HIF2  $\alpha$ . **Conclusion.** Assessment of main markers indices of endothelial dysfunction can be used for understanding the etiology of RVO development and the correct tactics of the patients' treatment forming.

**Key words:** retinal vein occlusions, macular edema, endothelial dysfunction, Endothelin-1 (ET-1), HIF1 $\alpha$ , HIF2  $\alpha$ .

*Budzinskaya M.V. – doctor of medical sciences, head of clinical research in ophthalmology department, deputy director on the scientific work, e-mail: m\_budzinskaya@mail.ru  
Shelankova A.V. – junior researcher, e-mail: shelankova\_aleks@mail.ru  
Plyukhova A.A. – candidate of medical sciences, researcher, e-mail: anna.plyukhova@gmail.com  
Rendel E.I. – candidate of medical sciences, head of clinical diagnostic laboratory, e-mail: labgb@mail.ru*