слайд 2. Воспаление играет важную роль в патогенезе наиболее распространенных заболеваний сетчатки, включая не только такую очевидную патологию, как увеиты, но и возрастную макулярную дегенерацию, окклюзию центральной вены сетчатки, диабетическую ретинопатию

слайд 2. Суть характерной для увеитов воспалительной реакции заключается в инфильтрации тканей глаза макрофагами и лимфоцитами. Патологии сетчатки (ВМД и ДР) присущи более тонкие субклинические признаки воспаления на уровне дезорганизации процессов передачи внутри- и межклеточных сигналов.

Слайд 3. Первым ответом сетчатки на стресс является активация находящихся в ней резидентных клеток. К ним относятся клетки пигментного эпителия, мюллеровы клетки, эндотелий и клетки микроглии, которые из-за их способности к фагоцитозу относятся к резидентным тканевым макрофагам.

Слайд 4. Клетки микроглии, меченые зеленым маркером, в норме располагаются вокруг сосудов сетчатки и хориоидеи. Находясь в состоянии относительного покоя (о чем свидетельствует их древовидная форма), они продуцируют иммуномодуляторы, участвуют в регуляции гомеостаза и ремоделировании тканей.

Слайд 5. В ответ на стресс клетки микроглии активируются, приобретают амебовидную форму (фенотип М1), мигрируют в наружный ядерный слой и субретинальное пространство. Здесь клетки микроглии, в частности, освобождают фоторецепторы от отработанных дисков, после чего возвращаются назад в периваскулярные пространства и вновь трансформируются в фенотип М2.

Слайд 6. Микроглия также покидает наружные слои сетчатки сквозь круглые отверстия в клетках пигментного эпителия по направлению к хориоидальным сосудам, сохраняя межклеточные контакты ПЭС и, тем самым, не повреждая гематоретинальный барьер. Таким образом, физиологический процесс трансцитоза активированных микроглиальных клеток не имеет ничего общего с воспалением, которое предполагает обязательное повреждение гисто-гематического барьера.

слайд 7. В патологических условиях (например, при диабетической ретинопатии) извращенный обмен веществ приводит к нарушению формирования отверстий внутри клеток пигментного эпителия. В результате все новые и новые активированные клетки микроглии не выводятся ни из наружных слоев сетчатки, ни из субретинального пространства, оказывая токсическое воздействие на фоторецепторы и другие нейроны сетчатки выделяемым TNF-a, IL-6, оксидом азота.

слайд 8. Деструкция продуцируемыми резидентными клетками цитокинами не только нейронов, но и гематоретинального барьера означает завершение субклинической клеточной стадии и начало сосудистой стадии воспаления, при которой плотные контакты эндотелиальных клеток и перицитов (среди них – клетки Рида-Штернберга и микроглия), не могут более контролировать поступление жидкости и клеток в сетчатку.

слайд 9. Это приводит к отеку сетчатки и внедрению в ее ткань большого количества нерезидентных клеток воспаления. Локализация и распространенность макулярного отека, т.е. интраретинальной жидкости, являются главными детерминантами остроты зрения у пациентов с влажной ВМД, ОВС и ДМО.

слайд 10. Одним из основных проявлений воспаления сетчатки является отек макулы, провоцируемый простагландинами, лейкотриенами, цитокинами, причем не только VEGF. Отек присущ ВМД, диабетической ретинопатии, окклюзии вены сетчатки и увеитам. В первую очередь отек развивается внутри глиальных клеток Мюллера и нейронов сетчатки, а затем распространяется в межклеточные пространства.

слайд 11-13. Насколько критична дисфункция мюлллеровской клетки наглядно демонстрируют следующие слайды, отражающие разнообразные функции этой клетки – тектоническую, синтетическую, трофическую, депонирующую, оптоволоконную. Помимо этого, клетки Мюллера обеспечивают интраретинальный водно-электролитный гомеостаз.

слайд 15. Прорыв гемато-ретинального барьера приводит к дисфункции Дистрофин 71 - цитоскелетного белка клетки Мюллера и дезорганизации аквапориновых и ионных каналов. – это белок цитоскелета клеток Мюллера. Его экспрессия снижается при повреждении ГРБ, что вызывает изменение положения ионных каналов.

Повреждение ГРБ сопровождается нарушением работы клеток Мюллера, изменением состояния межклеточной среды.

Повреждение ГРБ приводит не только к увеличению толщины сетчатки, но и к нарушению жизнедеятельности клеток сетчатки.

В ряде исследований изучена статистическая корреляция и вклад различных молекул в развитие отека макулы. На диаграммах рассеяния показано, что вариация толщины сетчатки у пациентов с отеком макулы вследствие ОВВС и ОЦВС лишь в 30% случаев определяется концентрацией VEGF, а в 70% зависит от других факторов.

Эти данные тесно коррелируют с результатами 3 Фазы клинических исследований BRAVO и CRUISE, согласно которым лечение анти-VEGF препаратами на 25-30% эффективнее плацебо повышает остроту зрения пациентов с отеком макулы вследствие ОВВС или ОЦВС.

В отличие от VEGF, концентрация IL-6 определяет вариацию толщины сетчатки приблизительно в 50% случаев. Это указывает на то, что провоспалительные цитокины играют решающую и, возможно, более важную, чем VEGF, роль в развитии отека макулы при этих заболеваниях. Более того, приведенные данные свидетельствуют о наличии пространства для лечебного воздействия за пределами анти-VEGF монотерапии.

Эти наблюдения нашли подтверждение в экспериментальных исследованиях. Например, просачивание жидкости из сосудов сетчатки мыши, вызванное внутривенным введением цитокинов IL-1β или TNF-α, концентрация которых повышена у пациентов с воспалительными заболеваниями сетчатки, не уменьшается после блокады VEGF. Это в очередной раз свидетельствует об отсутствии эффекта анти-VEGF препаратов в отношении множества других медиаторов воспаления.

Одним из важных клеточных аспектов воспаления является процесс, известный как стаз лейкоцитов или лейкостаз. Это строго регулируемый процесс, в ходе которого лейкоциты замедляют свое движение и прилипают к стенке сосуда прежде чем проникнуть сквозь нее в ткани. Лейкостаз включает в себя координированное действие множества групп молекул, называемых селектинами и интегринами. Кортикостероиды способны блокировать различные этапы лейкостаза, в том числе путем подавления экспрессии селектинов и интегринов.

Феномен лейкостаза наглядно продемонстрирован в этом исследовании транзиторной ишемии сетчатки, вызванной временной перевязкой зрительного нерва у крыс. Белые кровяные клетки, меченые флюоресцентным красителем – акридином оранжевым, вводят животному и визуализируют с помощью ангиографии. На рисунке слева видно множество белых точек – лейкоцитов, которые вышли из кровеносных сосудов и осели в ткани сетчатки. У животных, получивших триамцинолон, к сетчатке прилипло значительно меньшее количество лейкоцитов, что является наглядным подтверждением способности кортикостероидов значительно уменьшать воспалительную клеточную инфильтрацию. Это связано с уменьшением количества Р-селектина и ICAM-1, что подтверждается результатами Вестерн-блоттинга в нижней части слайда.

Кортисостероиды обладают плеотропным действием. Они оказывают множество эффектов, в том числе блокируют передачу межклеточных сигналов с помощью воспалительных липидных медиаторов: простагладинов и лейкотриенов. Ингибируют множество цитокинов и хемокинов. Путем модулирования процесса передачи сигналов с помощью молекул аденозина, стероиды уменьшают проницаемость гематоретинального барьера. Кроме того, они способствуют восстановлению структурной целостности плотных контактов и уменьшают межклеточную проницаемость – движение жидкости и солей между клетками.

Одним из важных клеточных аспектов воспаления является процесс, известный как стаз лейкоцитов или лейкостаз. Это строго регулируемый процесс, в ходе которого лейкоциты замедляют свое движение и прилипают к стенке сосуда прежде чем проникнуть сквозь нее в ткани. Лейкостаз включает в себя координированное действие множества групп молекул, называемых селектинами и интегринами. Кортикостероиды способны блокировать различные этапы лейкостаза, в том числе путем подавления экспрессии селектинов и интегринов.

Следует принять во внимание клеточные и тканевые структуры, лежащие в основе макулярного отека. Движение жидкости и солей строго регулируется согласованной работой внутриклеточных и межклеточных механизмов. Например, водные и ионные каналы регулируют движение жидкости внутрь клетки и наружу. Протеины плотных контактов (окклюдин и ZO1) участвуют в создании барьера на пути межклеточного тока жидкости.

Как было упомянуто ранее, глиальные клетки Мюллера являются одним из основных мест накопления внутриклеточной жидкости при отеке макулы. На гистологической картине слева красным цветом отмечен аквапорин-4, водный канал, обильно экспрессируемый клетками Мюллера, которые окрашены зеленым. Модель справа изображает аквапорин в открытой конфигурации, пропускающий жидкость внутрь клетки.

При ишемии и воспалении концентрация аквапорина-4 повышается. Слайд иллюстрирует значительное уменьшение экспрессии аквапорина-4 (коричневое окрашивание) в головном мозге под действием кортизола, что представляет собой очередной пример многогранного действия кортикостероидов.

При ишемии и воспалении концентрация аквапорина-4 повышается. Слайд иллюстрирует значительное уменьшение экспрессии аквапорина-4 (коричневое окрашивание) в головном мозге под действием кортизола, что представляет собой очередной пример многогранного действия кортикостероидов.

В ряде клинических исследований показано, что анти-VEGF препараты в качестве монотерапии и кортикостероды различаются по широте спектра подавления провоспалительных молекул. Например, исследование водянистой влаги пациентов с диабетическим макулярным отеком, получивших лечение триамцинолоном или бевацизумабом, показало, что триамцинолон снижает концентрацию множества цитокинов и хемокинов, в то время как бевацизумаб воздействует исключительно на VEGF. В действительности бевацизумаб настолько эффективен, что практически полностью устраняет VEGF, обнаруживаемый доступными методами. Напротив, триамцинолон снижает концентрацию VEGF, вероятно, до уровня, близкого к норме. (Учитывая важную физиологическую роль VEGF, возникает вопрос о целесообразности полной нейтрализации VEGF.)

Причиной постановки этого вопроса стали результаты экспериментов на животных, указывающие на повышение концентрации VEGF внутри глаза после введения анти-VEGF антител, вероятно, в виде компенсаторной реакции. Компенсаторное повышение концентрации VEGF может лежать в основе рецидива отека макулы, наблюдавшегося, по сообщению ряда исследователей, после лечения бевацизумабом окклюзии вены сетчатки.

В III Фазе исследования CRUISE результаты применения ранибизумаба при отеке макулы вследствие ОЦВС продемонстрировали феномен рикошета при отмене лечения. У пациентов, получивших 6 последовательных инъекций ранибизумаба, при отсутствии очередной инъекции на 6 месяц наблюдалось увеличение толщины сетчатки в центральной зоне на 200 мкм по данным ОКТ.

Напротив, у пациентов, находившихся в первые 6 месяцев в группе плацебо, при отсутствии инъекции ранибизумаба на 6 месяц наблюдалось увеличение толщины сетчатки лишь на 21 мкм. Эти данные четко указывают на феномен рикошета.

Первое исследование, продемонстрировавшее токсичность анти-VEGF препаратов для клеток сетчатки, провели Tony Adamis и David Shima. Они обнаружили, что интраокулярная фармакологическая супрессия VEGF приводит к гибели ганглиозных клеток сетчатки крысы в течение нескольких месяцев после инъекции. Фактор роста эндотелия сосудов-А является фактором выживания нейронов сетчатки и важнейшим нейропротектором при адаптивной реакции на ишемическое повреждение.

Позднее группа исследователей Pat D’Amore показала, что системная нейтрализация VEGF с помощью растворимого Flt-1 (ловушка VEGF) приводит к гибели глиальных клеток Мюллера и фоторецепторов крысы в течение нескольких недель после инъекции. На гистологических препаратах, окрашенных по методу TUNEL, виден апоптоз клеток внутреннего и наружного ядерного слоя (коричневое окрашивание). Результаты другого исследования группы D’Amore показали, что удаление гена VEGF из клеток ПЭС мыши приводит к дегенерации хориокапилляров через несколько месяцев.

Ishibashi с коллегами показали, что введение анти-VEGF в субретинальное пространство приводит к дегенерации фоторецепторов мыши через несколько месяцев.

Ambati с коллегами показали, что внутривенное введение анти-VEGF антител оказывает дозозависимое токсическое действие на клетки ПЭС мыши. На фотографиях глазного дна мышей, получивших анти-VEGF антитела, видны бело-желтые участки дегенерации ПЭС, обозначенные стрелками.

Результаты недавнего исследования подтвердили, что удаление гена VEGF из клеток ПЭС взрослой мыши приводит к гибели хориокапилляров и фоторецепторов. На электронной микрофотографии слева показана гибель хориокапилляров мыши без VEGF в сравнении с нормальными хориокапиллярами (звездочки) животного из контрольной группы. На микрофотографии справа заметна утрата опсинового сигнала (зеленого цвета) колбочек мыши без VEGF.

Многочисленные свидетельства токсического влияния анти-VEGF на сетчатку животных поднимают клинически важный вопрос о возможном вредном воздействии длительной анти-VEGF терапии на сетчатку человека.