

Визначення рівня фактора росту ендотелію судин у сльозі недоношених дітей із групи ризику розвитку ретинопатії недоношених

Резюме. *Актуальність.* Ретинопатія недоношених (РН) є специфічною хворобою саме глибоко недоношених дітей і посідає одне з головних місць у структурі дитячої інвалідності по зору, однак цьому стану можна запобігти завдяки своєчасному хірургічному втручанням. Для запобігання тяжким ускладненням у всьому світі застосовують планові профілактичні огляди очного дна в дітей із групи ризику розвитку РН кожні 2 тижні. Це надійна та перевірена роками методика, недоліками якої можна вважати завдання дитині додаткового медичного навантаження та потреба в досить дорогому офтальмологічному обладнанні, наявності в медперсоналу специфічних навичок для проведення огляду очей недоношеної новонародженої дитини. Через це вважаємо актуальним пошук додаткових засобів прогнозування розвитку цієї хвороби. Зважаючи на наявність доказаного зв'язку рівня фактора росту ендотелію судин (ФРЕС) в середовищах організму з розвитком РН, ми зацікавились можливістю побудувати методика прогнозування розвитку РН на основі цього зв'язку. **Мета:** встановити зв'язок між змінами рівня ФРЕС у сльозовій рідині дітей із групи ризику розвитку РН із появою та/або прогресуванням цієї хвороби. **Матеріали та методи.** До дослідження увійшли 23 дитини з групи ризику розвитку РН (вага при народженні ≤ 1500 г та термін гестації ≤ 32 тижнів). Одночасно зі скринінговим оглядом очного дна проводився відбір сльозової рідини. Для цього використовували стерильний клаптик фільтровального паперу з подальшою заморожкою (патент України на корисну модель № 121473, МПК А61В 3/00 від 11.12.2017. Бюл. № 23). Рівень ФРЕС визначали методом імуноферментного твердофазного аналізу. Отримані дані підлягали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента та W-критерію Вілкоксона. **Результати.** Виявлено, що рівень ФРЕС у сльозі недоношених дітей із групи ризику розвитку РН підвищується при появі або прогресуванні цієї хвороби. В той же час ми бачимо відсутність змін рівня ФРЕС у сльозі новонароджених, які мали нормальний розвиток сітківки без проявів хвороби в динаміці. **Висновки.** Виявлено статистично значуще підвищення рівня ФРЕС у сльозі недоношених дітей у динаміці при прогресуванні ретинопатії або при відсутності позитивної динаміки.

Ключові слова: ретинопатія недоношених; ФРЕС; діагностика РН; недоношені новонароджені; рівень ФРЕС у сльозі

Вступ

Ретинопатія недоношених (РН) — це судинно-проліферативна патологія сітчастої оболонки ока, розвиток якої обумовлений анатомічною та функціональною незрілістю очного яблука та яка належить до найбільш тяжких захворювань недоношених новонароджених. РН посідає одне з головних місць у струк-

турі дитячої інвалідності по зору, однак цьому стану можна запобігти завдяки своєчасному хірургічному втручанням.

В основі хвороби лежить незавершеність формування судинної системи недоношеного малюка, адже, як відомо, процес васкуляризації триває до 40 тижнів гестації. Відповідно, чим раніше народилася дити-

на, тим більшими є аваскулярні зони [4, 18]. Провідна роль у формуванні судинної системи людини належить фактору росту ендотелію судин (ФРЕС). Це неодноразово було вивчено на тваринних моделях та людині [8, 10, 17, 18]. Його вплив більш виражений у фетальному періоді розвитку ембріона, після народження рівень ФРЕС поступово знижується відповідно до зниження швидкості зростання організму, його загальна висока кількість поступово змінюється локальним продукуванням у разі потреби. Але у передчасно народжених дітей концентрація ФРЕС у крові залишається високою навіть після народження. Це пов'язано з незрілістю органів дитини, в тому числі ока, на момент народження. Тому при РН спостерігається новоутворення патологічних судин сітківки ока у відповідь на наявність гіпоксичних аваскулярних зон [18].

Численні літературні дані свідчать про наявність зв'язку підвищення рівня ФРЕС в сироватці крові з прогресуванням РН [9, 13, 16, 18]. Вважається, що рівень цього фактора може бути використано для прогнозування перебігу РН. Але рівень ФРЕС у сльозовій рідині при ретинопатії недоношених не вивчався, хоча існують праці про зміни рівня ФРЕС у сльозі дорослих людей при захворюваннях, що мають аналогічний патогенез. Зважаючи на виявлений зв'язок рівня ФРЕС з перебігом аналогічних РН за патогенезом хвороб ока, ми вважаємо доцільним пошук такого зв'язку при РН. Слід також зазначити, що існує стале уявлення про недостатню кількість сльози в новонародженій дитини, тим більше недоношеної, для її забору та лабораторного дослідження. Однак у попередній своїй роботі ми показали принципову можливість визначення білкових фракцій у крові недоношених новонароджених методом твердофазного імуноферментного аналізу (патент України на корисну модель № 121473, МПК А61В 3/00 від 11.12.2017. Бюл. № 23) [3].

Мета: визначити рівень фактору росту ендотелію судин у сльозі недоношених дітей групи ризику розвитку ретинопатії недоношених і оцінити його зміни в динаміці.

Матеріали та методи

До дослідження увійшли 23 дитини з вагою при народженні ≤ 1500 г та терміном гестації ≤ 32 тижні, які не мали тяжких загальних захворювань або порушень розвитку. Скринінговий огляд проводився починаючи з 4-го тижня життя, у відповідні проміжки часу до повної васкуляризації сітківки або до розви-

тку передпорогової стадії РН типу 1 та більш тяжкої, коли вона потребувала хірургічного втручання. Огляд очного дна проводився за допомогою налобного бінокулярного офтальмоскопа та ретинальної педіатричної системи Рапосат в умовах медикаментозного мідріазу.

Для визначення рівня ФРЕС у дитини дворазово було відібрано сльозу на стерильний клаптик фільтрувального паперу з подальшою заморозкою (патент України на корисну модель № 121473, МПК А61В 3/00 від 11.12.2017. Бюл. № 23). Проміжок між двома маніпуляціями становив 14 ± 3 дні. Сльозу заморожували при температурі -20°C , і в цьому стані вона зберігалась до моменту проведення дослідження. Рівень ФРЕС визначали методом імуноферментного твердофазного аналізу (ІФА). Для роботи було використано тест-систему Human VEGF-A ELISA Kit виробництва Ray Biotech, Inc, США. Новонароджених було розподілено на 2 групи: ті, в яких спостерігалось прогресування РН або відсутність позитивної динаміки (група 1), та ті, в яких спостерігався регрес захворювання (група 2). При проведенні аналізу для надання результатів розраховувалось середнє значення показника (\bar{X}) та його стандартне відхилення (SD). При порівнянні показників у групах використано критерій Стьюдента (нормальний закон розподілу) або критерій W Вількоксона (закон розподілу, відмінний від нормального).

Результати

В 1-й групі було 15 дітей, гестаційний вік яких на момент народження становив у середньому $29,2 \pm 1,8$ тижня, вага при народженні — 1215 ± 247 г. В 2-й групі було 8 дітей, гестаційний вік яких на момент народження становив у середньому $30,7 \pm 1,5$ тижня, вага при народженні — 1360 ± 208 г. Кількість ФРЕС у сльозі при першому огляді в 1-й групі становила $27,1 \pm 24,2$ пм/мл, в 2-й групі — $17,6 \pm 21,3$ пм/мл. Отримані дані подані в табл. 1.

При порівнянні показників у двох групах (табл. 1) статистично значимої відмінності між ними не виявлено ($p = 0,17; 0,06; 0,66$).

В табл. 2 надано результати порівняння показників рівня ФРЕС у сльозі (С2) у двох групах на момент другого дослідження. В першій групі дітей рівень ФРЕС становив $34,5 \pm 28,5$ пм/мл, в другій групі — $18,8 \pm 17,9$ пм/мл.

При порівнянні рівня ФРЕС у двох групах значущої відмінності між цими показниками не було встановлено ($p = 0,11$).

Таблиця 1. Дані порівняння показників ваги при народженні, гестаційного віку та рівня ФРЕС у сльозі в двох групах

Показник	$\bar{X} \pm SD$		Рівень значення відмінності, p
	Група 1 (n = 15)	Група 2 (n = 8)	
Вага при народженні, г	1215 ± 247	1360 ± 208	0,17
Гестаційний вік, тижнів	$29,2 \pm 1,8$	$30,7 \pm 1,5$	0,06
Рівень ФРЕС у сльозі при першому огляді (С1), пм/мл	$27,1 \pm 24,2$	$17,6 \pm 21,3$	0,66

Таблиця 2. Дані порівняння показників рівня ФРЕС у сльозі в двох групах на момент другого дослідження

Показник	$\bar{X} \pm SD$		Рівень значення відмінності, p
	Група 1 (n = 14)	Група 2 (n = 7)	
Рівень ФРЕС у сльозі при другому огляді (C2), пм/мл	34,5 ± 28,5	18,8 ± 17,9	0,11

Для аналізу динаміки змін рівня ФРЕС у сльозі новонароджених було використано критерій Фрідмана для порівняння повторних змін.

При порівнянні повторних змін у групі, в якій спостерігалось прогресування РН або відсутність позитивної динаміки, було виявлено статистично значуще підвищення рівня ФРЕС у сльозі новонароджених при повторному огляді ($p = 0,026$). При аналізі динаміки в групі дітей із регресом захворювання зміни рівня ФРЕС в сльозі статистично значимої відмінності не виявлено ($p = 0,47$).

Як бачимо, рівень ФРЕС у сльозі новонароджених дітей із групи ризику розвитку РН при першому скринінговому огляді не демонструє вірогідних відмінностей, коли хвороба ще не розвинулась і очі цих пацієнтів умовно мають однакові обставини для подальшого розвитку. В динаміці ми бачимо відсутність змін ($p > 0,05$) рівня ФРЕС у сльозі новонароджених, які мали нормальний ріст судин сітківки, а при появі хвороби або при відсутності нормального розвитку сітківки на момент другого огляду маємо статистично підтвержене підвищення цього показника ($p < 0,05$).

Отже, в нашому дослідженні виявлено, що рівень ФРЕС у сльозі недоношених дітей із групи ризику розвитку РН підвищується при появі або прогресуванні цієї хвороби.

Обговорення

На сьогодні зміни протеїнового профілю сльози пов'язують із наявністю різноманітних очних хвороб, тоді як як рівень, наприклад, лізоциму або інших прозапальних агентів у сльозі достеменно пов'язаний із запальними захворюваннями оболонок ока, рівень проангіогенних факторів пов'язаний із офтальмоневаскуляризацією. Васкулоендотеліальний фактор росту судин є найбільш активним у розвитку патологічної васкуляризації оболонок ока, із відомих факторів росту він найбільш вивчений, на протидії йому засноване сучасне лікування патологічних станів ока.

Зважаючи на високу місцеву активність ФРЕС, цікавим є його рівень в сльозовій рідині при судинопроліферативних захворюваннях ока. Так, вивчали зміни рівня ФРЕС у сльозі при розвитку діабетичної ретинопатії, при переході її в проліферативну стадію [1, 2, 5, 7, 11, 14, 19]. Аналогічні роботи було проведено при віковій макулярній дегенерації [6], неоваскуляризації рогики [21], окклюзії центральної вени сітківки [12], до та після кераторефракційної хірургії [19].

Найчастіше все ж таки вивчається рівень ФРЕС у сльозі при діабетичній ретинопатії у дорослих, і був показаний його прямий зв'язок із розвитком цього захворювання [11, 14, 19]. За твердженням авторів, різниця показників має статистичну вірогідність. А зниження

рівня ФРЕС при прогресуванні діабетичної ретинопатії узгоджується зі зниженням інтенсивності судинної проліферації в термінальних стадіях хвороби.

Цікавим є дослідження рівня ФРЕС у сльозовій рідині пацієнтів із неоваскуляризацією рогики [14]. В цьому дослідженні на 10 волонтерах показано визначений у групі контролю рівень ФРЕС у сльозі здорових людей, що становив близько 5000 пг/мл.

Також активно вивчається рівень ФРЕС у сльозовій рідині при інших, неофтальмологічних, захворюваннях. Отже, є досить велика робота щодо рівня ФРЕС у сльозі при системному склерозі. Для нас це дослідження цікаве тим, що у ньому надано рівні ФРЕС у сльозовій рідині здорових людей — 6,15 пг/мл (від 3,84 до 12,3), отримані при обстеженні 27 здорових волонтерів [6].

Як бачимо, показники рівня ФРЕС мають великі розбіжності в абсолютних цифрах. Але в усіх роботах показано вірогідний зв'язок підвищеного рівня ФРЕС у сльозовій рідині при підсиленні судинопроліферативного процесу в оболонках ока. Так само й в нашому дослідженні ми бачимо статистично значуще підвищення рівня ФРЕС при прогресуванні РН або за відсутності нормальної васкуляризації в динаміці. Таким чином, визначення рівня ФРЕС у сльозі новонароджених дітей, у тому числі недоношених, можна розглядати як перспективну допоміжну методику в діагностиці неоваскулярних захворювань ока, а саме ретинопатії недоношених.

Висновки

Виявлено статистично значуще підвищення ($p = 0,026$) рівня фактора росту ендотелію судин у сльозі недоношених дітей у динаміці при прогресуванні ретинопатії або за відсутності позитивної динаміки.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Илюхин П.А. Применение антиангиогенных факторов в хирургическом лечении пролиферативной диабетической ретинопатии: Автореф. диссертации. — М., 2012.
2. Левкина О.А. Трансклеральная диодная лазеркоагуляция сетчатки как первый этап хирургического лечения пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией: Автореф. диссертации. — М., 2010.
3. Патент України на корисну модель № 121473, МПК А61В 3/00 від 11.12.2017. Бюл. № 23.
4. Сайдашева Э.И., Сомов Е.Е., Фомина Н.В. Избранные лекции по неонатальной офтальмологии. — СПб.: Нестор-история, 2006.

5. Самойлов А.Н., Мустафин А.Г., Коробицын А.Н. Сосудистый эндотелиальный фактор роста в слезной жидкости как маркер эффективности лечения диабетической ретинопатии // Казанский медицинский журнал. — 2012. — № 6.
6. Слепова О.С., Еремеева Е.А., Рябина М.В., Сорожкина Е.С. Цитокины в слезной жидкости и сыворотке крови как ранние биомаркеры возрастной макулярной дегенерации // Медицинская иммунология. — 2015. — Т. 17, № 3. — С. 245-252.
7. Сыроедова О.Н. Факторы риска развития диабетической ретинопатии: Автореф. диссертации. — М., 2009.
8. From the Screening Examination of Premature Infants for Retinopathy of Prematurity / American Academy of Pediatrics. Policy Statement // Pediatrics. — 2013. — Vol. 131, № 1. — P. 189-195.
9. Hakeem A.H., Mohamed G.B., Othman M.F. Retinopathy of prematurity: A Study of Incidence and Risk Factors in NICU of Al-Minya University Hospital in Egypt // J. Clin. Neonatol. — 2012. — Vol. 1, № 2. — P. 76-81.
10. Jefferies A.L. Retinopathy of prematurity: Recommendations for screening / Canadian Paediatric Society // Paediatr. Child Health. — 2010. — Vol. 15, № 1. — P. 667-670.
11. Jingfang L., Bingyin S., Shuixiang H., Xiaoli Y., Willcox M.D.P., Zhenjun Zhao. Changes to tear cytokines of type 2 diabetic patients with or without retinopathy.
12. Kasza M., Balogh Z., Biro L., Ujhelyi B., Damjanovich J., Csutak A., Várdai J., Berta A., Nagy V. Vascular endothelial growth factor levels in tears of patients with retinal vein occlusion // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. — 2015. — Vol. 253, № 9. — P. 1581-1586.
13. Reddy B., Doddamani R.M., Koujalagi M.B., Guru-prasad G., Ashwini R.C. Retinopathy of prematurity in a tertiary care hospital: incidence and risk factors // Pediatric Review: International Journal of Pediatric Research. — 2016. — Vol. 3, № 5.
14. Rentka A., Hársfalvi J., Berta A., Köröskényi K. Clinical Study: Vascular Endothelial Growth Factor in Tear Samples of Patients with Systemic Sclerosis / Hindawi Publishing Corporation // Mediators of Inflammation. — 2015.
15. Royal College of Paediatrics and Child Health. Guideline for the Screening and Treatment of Retinopathy of Prematurity [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.rcpch.ac.uk/improving-child-health/clinical-guidelines/find-paediatric-clinical-guidelines/neonatology/guideline>
16. Taqui A.M., Syed R., Chaudhry T.A., Ahmad K., Salat M.S. Retinopathy of prematurity: frequency and risk factors in a tertiary care hospital in Karachi, Pakistan / Taqui A.M. // J. Pak. Med. Assoc. — 2008. — Vol. 58, № 1. — P. 186-190.
17. Tasman W. Retinopathy of prematurity: Do we still have a problem? The Charles L. Schepens lecture // Arch Ophthalmol. — 2011. — № 129. — P. 1083-1086.
18. Verma A., Nema N., Patel S., Ishrat S., Sidharth M. Retinopathy of Prematurity: Incidence and Risk Factors Research Article / Verma A. // Int. J. Ophthalmol. Eye Res. — 2016. — Vol. 4, № 3. — P. 198-201.
19. Vesaluoma M., Teppo A.M., Grönhagen-Riska C., Tervo T. Release of TGF-beta 1 and VEGF in tears following photorefractive keratectomy // Curr. Eye Res. — 1997. — Vol. 16, № 1. — P. 19-25.
20. Visser K.E., ChB M.B., BSc (MedSci) Hons, Freeman N. Retinopathy of prematurity screening criteria and work load implications at Tygerberg Children's Hospital, South Africa: A cross-sectional study / Visser K.E. — 2016. — Vol. 106, № 6.
21. Zakaria N., Van Grasdorff S., Wouters K., Rozema J., Koppen C., Lion E. Human Tears Reveal Insights into Corneal Neovascularization // PLoS ONE — 2012. — Vol. 7, № 5. — P. 351-364.

Отримано 19.02.2019 ■

Кацан С.В.¹, Федотова С.Г.²¹ ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины», г. Одесса, Украина² ЧП «Клиника Медиком», г. Киев, Украина

Определение уровня фактора роста эндотелия сосудов в слезе недоношенных детей из группы риска развития ретинопатии недоношенных

Резюме. Актуальность. Ретинопатия недоношенных (РН) является специфическим заболеванием, связанным с недоношенностью. Она занимает одно из главных мест в инвалидизации по зрению в детском возрасте. Однако развитие серьезных осложнений при РН можно предотвратить своевременным вмешательством. Для этого во всем мире принята система скрининговых осмотров детей из группы риска развития РН каждые 2 недели. Это надежная и проверенная методика, которая, однако, имеет свои особенности: дополнительная нагрузка недоношенного ребенка медицинскими процедурами, необходимость наличия дорогостоящего специфического оборудования, специальных навыков у медперсонала для проведения осмотра глазного дна этой группы пациентов. Поэтому считаем актуальным поиск дополнительных возможностей прогнозирования развития РН. Связь уровня фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС) с развитием РН на сегодня доказана, и нам представляется интересной возможность разработки методики прогнозирования РН на основе этой связи. **Цель:** показать связь уровня ФРЭС в слезной жидкости детей из группы риска развития РН с появлением и/или прогрессированием этого заболевания.

Материалы и методы. В исследование вошли 32 ребенка из группы риска развития РН (вес при рождении ≤ 1500 г и срок гестации ≤ 32 недель). Вместе со скрининговым осмотром проводили отбор слезной жидкости. Для этого использовали стерильную фильтровальную бумагу с последующей заморозкой (патент Украины на полезную модель № 121473, МПК А61В 3/00 от 11.12.2017. Бюл. № 23). Уровень ФРЭС определяли методом иммуноферментного твердофазного анализа. Полученные данные были статистически обработаны с использованием критерия Стьюдента и W-критерия Вилкоксона. **Результаты.** Выявлено, что уровень ФРЭС в слезе недоношенных детей из группы риска развития РН повышается при появлении или прогрессировании этого заболевания. В то же время изменения отсутствовали у детей без проявлений РН в динамике. **Выводы.** Выявлено статистически значимое повышение уровня ФРЭС в слезе недоношенных детей в динамике при прогрессировании болезни или при отсутствии положительной динамики.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных; ФРЭС; диагностика РН; недоношенные новорожденные; уровень ФРЭС в слезе

S.V. Katsan¹, S.G. Fedotova²

¹ SI "The Filatov institute of eye diseases and tissue therapy of NAMS of Ukraine", Odessa, Ukraine

² PC "Medikom Clinics", Kyiv, Ukraine

Studying the vascular-endothelial growth factor level in the tears in newborns of the risk group for developing the retinopathy of prematurity

Abstract. Background. The retinopathy of prematurity (ROP) is a specific pathology of premature newborns. ROP can lead to blindness, but it is predictable with early treatment. To prevent severe complications, all pediatric ophthalmologists use screening for premature newborns every 2 weeks before the retina becomes to normal condition, or the ROP appears. But every-two-week screening disturbs such babies, needs the special equipment and high skills of ophthalmologists and nurses to provide this procedure. Such features make us to look for additional ways to diagnose the ROP. Today we know the relation between the vascular-endothelial growth factor (VEGF) levels and the ROP onset. In this study, we searched the method of the ROP prediction based on changing of VEGF levels. The purpose was to find the relation between the changes of VEGF level in the tears in premature newborns of the risk group and the state of ROP. **Materials and**

methods. The study involved 32 newborns of the risk group for the ROP (weight of birth was less than 1500 g, gestation age was under 32 weeks). At the moment of screening, we took the tears from babies. To collect the tears, we used the sterile sheet of filter paper with further freezing. The VEGF level was determined by the solid immunoassay analysis. The data obtained were statistically processed with Student's and Wilcoxon criterions. **Results.** VEGF level in tears in premature newborns of the risk group for ROP was found to be higher if associated with onset or the progression of this disease. Also no changes were determined in babies with normal retina growth without ROP. **Conclusions.** Statistically significant increase in VEGF level in tears was found in premature babies with ROP onset or its progression.

Keywords: retinopathy of prematurity; VEGF; ROP diagnosis; premature newborns; VEGF level in tears