

О.Л. Фабрикантов<sup>1</sup>, И.В. Лев<sup>1</sup>, Н.М. Агарков<sup>2</sup>, Р.Э. Османов<sup>1</sup>

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ У ПОЖИЛЫХ

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова», Тамбовский филиал, 392000, Тамбов, Рассказовское шоссе, 1; <sup>2</sup> Юго-Западный государственный университет, 305040, Курск, ул. 50 лет Октября, 94, e-mail: vitalaxen@mail.ru

Развитие диабетической ретинопатии ассоциируется с матриксными металлопротеиназами, но они редко применяются для прогнозирования данной патологии. Цель исследования — прогнозирование развития непролиферативной диабетической ретинопатии в пожилом возрасте по уровню матриксных металлопротеиназ в плазме крови. Основную группу составили 63 пациента 60–74 лет с сахарным диабетом 2-го типа и непролиферативной диабетической ретинопатией, контрольную — 56 пациентов такого же возраста с сахарным диабетом 2-го типа и отсутствием диабетической ретинопатии и другой офтальмопатологии в настоящее время и в анамнезе. Обследование пациентов обеих групп включало тонометрию, визиометрию, стандартную фоторегистрацию глазного дна, оптический когерентный томографический, оптическую когерентную томографию-А, флюоресцентную ангиографию. Определение матриксных металлопротеиназ осуществляли методом твердофазного ИФА. Установлено статистически значимое повышение уровня матриксной металлопротеиназы-9 в основной группе больных до  $55,7 \pm 2,6$  нг/мл против  $40,2 \pm 1,9$  нг/мл в контрольной, матриксной металлопротеиназы-2 до  $269,8 \pm 4,2$  нг/мл против  $221,9 \pm 3,6$  нг/мл соответственно. На основе уровня матриксных металлопротеиназ-2 ( $X_1$ ) и -9 ( $X_2$ ) в крови создана регрессионная модель для прогнозирования развития диабетической ретинопатии, имеющая вид  $Y = 28,315 + 3,892 \cdot X_1 + 2,453 \cdot X_2$ , что позволит выявлять заболевание на ранней стадии.

**Ключевые слова:** диабетическая ретинопатия, матриксные металлопротеиназы, пожилой возраст, прогнозирование

Наиболее частым нейромикроваскулярным осложнением сахарного диабета считается диабетическая ретинопатия (ДР), которая в настоящее время рассматривается различными исследователями как заболевание нервно-сосудистой единицы сетчатки глаза, представленной функциональным объединением и взаимозависимостью нейронов, глии, микроглиальных клеток и сосудистой сети, интегрированных для регулирования нормальной

функции сетчатки [4, 10, 12, 14]. ДР представляет хроническое, быстро прогрессирующее и распространённое заболевание, сопровождающееся закономерным снижением зрения вплоть до полной его потери, особенно в старших возрастных группах [3, 5].

По мере того как происходит увеличение численности населения в пожилом и старческом возрасте и повышается глобальная распространённость сахарного диабета, наблюдается интенсивное увеличение частоты ДР и потери вследствие нее зрения [14]. В современных условиях во всем мире 34,6% пациентов, страдающих сахарным диабетом, имеют ту или иную степень ДР, а 10,2% — зрение-угрожающую ДР [10, 13].

Несмотря на проводимые научные исследования по проблеме ДР, отдельные аспекты и механизмы ее развития на молекулярно-клеточном уровне остаются недостаточно изученными и дискуссионными. В частности, специалистами редко рассматриваются и используются для прогнозирования риска развития ДР матриксные металлопротеиназы (ММП). В некоторых публикациях сообщается об участии матриксной ММП-2 и -9 в генезе ДР [9, 15] и процессах нейродегенерации [12]. С осознанием того, что дисфункция нейронов и нейродегенерация являются ранними предикторами ДР, прогнозирование последней по содержанию ММП в системном кровотоке становится актуальной задачей офтальмологии и геронтологии.

Цель исследования — прогнозирование развития непролиферативной ДР в пожилом возрасте по уровню ММП в плазме крови.

### Материалы и методы

При выполнении исследования сформированы две клинические группы — основная и контрольная. В основную группу были включены 63 пациен-

та 60–74 лет с непролиферативной ДР и сахарным диабетом (СД) 2-го типа, проходивших обследование и лечение в 2020–2021 гг. в Тамбовском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова. Контрольная группа была представлена 56 пациентами пожилого возраста с СД 2-го типа и отсутствием ДР и другой офтальмологической патологии в настоящее время и в анамнезе.

Сравнение ведущих клинических характеристик пациентов обследованных групп свидетельствует об отсутствии существенных различий по возрасту, ИМТ, продолжительности заболевания и сахароснижающей терапии (табл. 1).

Не установлено также статистически значимых различий в содержании ММП-2 и -9 в плазме крови в зависимости от величины ИМТ. У пациентов с ДР с избыточной массой тела и ожирением наблюдали тенденцию к повышению уровня изученных ММП ( $p > 0,05$ ). Аналогичная закономерность свойственна и пациентам с СД 2-го типа, не имеющих ДР. По длительности заболевания и гипогликемическим препаратам основная и контрольные группы статистически значимо не различались. Всё это подчеркивает однородность сравниваемых групп по ведущим клиническим параметрам и отсутствие влияния ИМТ на уровень ММП-2 и -9 в плазме крови.

Пациентам обеих групп выполняли комплексное офтальмологическое обследование: тонометрию, статическую периметрию Humphrey; определение остроты зрения посредством проектора оптометров «Reichert» со стандартным набором корректируемых линз; стандартную фотореги-

страцию изменений глазного дна с исследованием семи центральных полей по ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, 1991); оптическую когерентную томографию с выявлением степени дезорганизации внутренних слоев сетчатки, разрушения эллипсоидной зоны, наличия субретинальной жидкости; оптическую когерентную томографию-А с определением капиллярной плотности поверхностного, срединного и глубокого капиллярных сплетений, извилистости и диаметра кровеносных сосудов и их площади; флюоресцентную ангиографию по показаниям.

Диагноз непролиферативной ДР устанавливали в соответствии с рекомендациями и критериями, представленными в «Национальном руководстве по диабетической ретинопатии» [1].

Определение содержания ММП выполняли натошак в плазме крови, взятой из вены, методом твердофазного ИФА на приборе «Sanofi diagnostic Pasteur» (Франция) с использованием соответствующих наборов для ММП-2 и -9 человека «MILLIPLEX MAP Human». За референсные значения ММП-2 принято 50–200 г/мл, ММП-9 — 10–30 нг/мл.

Для прогнозирования развития ДР выполняли регрессионный анализ с применением стандартного статистического пакета Statistica 10.0. Оценку созданной регрессивной модели проводили по критерию F (Фишера). При обработке полученных результатов определяли средние арифметические величины ( $M$ ) и стандартные ошибки средних арифметических ( $m$ ), нормальность распределения ММП в плазме крови по критерию Шапиро—Уилка, статистическую значимость раз-

Таблица 1

Ведущие клинические характеристики пациентов основной и контрольной групп,  $M \pm m$

Параметр	Основная группа, $n=63$	Контрольная группа, $n=56$	$p$
Возраст, лет	68,7±3,1	69,4±2,9	>0,05
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,5±0,7	27,6±0,5	>0,05
Уровень ММП-2 при ИМТ 18,5–24,9, нг/мл	266,3±4	218,1±3,5	<0,001
25–29,9, нг/мл	267,9±3,8	220,2±3,4	<0,001
>30, нг/мл	275,2±3,9	227,4±3,7	<0,001
18,5–24,9, нг/мл	53,3±2,4	37,5±2,1	<0,001
Уровень ММП-9 при ИМТ 25–29,9, нг/мл	54,6±2,3	40,4±2,2	<0,001
>30, нг/мл	59,2±2,6	42,7±2	<0,001
Продолжительность заболевания, годы	7,8±0,8	6,2±0,6	>0,05
Сахароснижающие препараты	Метформин — 62,4% Диабетон — 24,5% Другие — 13,1%	Метформин — 59,8% Диабетон — 21,9% Другие — 18,3%	>0,05

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: ММП — матриксная металлопротеиназа.

личий по критерию  $\chi^2$ . Во всех случаях различие между величинами считали статистически значимым при  $p < 0,05$ .

Исследование проводили с соблюдением этических норм и принципов Хельсинкской декларации при получении письменного информированного согласия пациентов на участие и использование полученных результатов с научной целью.

### Результаты и обсуждение

Изучение уровня ММП у пациентов пожилого возраста, страдающих непролиферативной ДР, выявило статически значимое увеличение их содержания в плазме крови (табл. 2). При этом увеличение содержания ММП у пациентов 60–74 лет с непролиферативной ДР по сравнению с контрольной группой произошло неодинаково, но в обоих случаях со статистически значимой разницей. Наибольшее повышение содержания в плазме крови у пациентов пожилого возраста основной группы в сравнении с контрольной было при ММП-9, уровень которой возрос в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ). Увеличение содержания ММП-2 в плазме крови у пожилых пациентов с непролиферативной ДР в сравнении с контрольной группой произошло в меньшей степени, но со статистически значимым различием ( $p < 0,001$ ).

Следовательно, при ДР в пожилом возрасте изменения содержания в плазме крови в большей степени касаются ММП-9, обладающей провоспалительной активностью. Это указывает на важную роль воспалительного процесса в развитии ДР в пожилом возрасте. Напротив, ММП-2 усиливает активацию противовоспалительных процессов для обеспечения у пожилых пациентов гомеостатических реакций.

Используя регрессионный анализ для обработки полученных результатов и прикладной пакет статистических программ Statistica 10.0, определены величины константы и переменных ММП-9 и -2 для построения регрессионной модели с целью прогнозирования непролиферативной ДР в пожилом возрасте (табл. 3).

На основе полученных значений константы и переменных для ММП-2 и -9 в соответствии с уровнем их содержания в плазме крови у пациентов 60–74 лет с непролиферативной ДР разработана регрессионная модель, имеющая следующий вид:

$$Y = 28,315 + 3,892 \cdot X_1 + 2,458 \cdot X_2,$$

где  $Y$  — вероятность развития непролиферативной ДР в пожилом возрасте;  $X_1$  — содержание в сыворотке крови ММП-2 у пациентов пожилого возраста с ДР;  $X_2$  — содержание в сыворотке крови ММП-9 у пациентов пожилого возраста с непролиферативной ДР; величина 28,315 — константа регрессионной модели.

Проведя апробацию созданной регрессионной модели и соответствующие математические расчёты, нами установлено, что при значениях  $Y$ , находящихся в диапазоне 964,305–1 294,142, с вероятностью  $p < 0,01$  прогнозируется развитие непролиферативной ДР в пожилом возрасте при вышеуказанных изменениях в плазме крови уровня ММП-2 и -9.

ММП относятся к семейству цинкозависимых протеолитических ферментов и способны разрушать все типы белков внеклеточного матрикса [2], активно участвуют в деструктивно-воспалительных процессах при офтальмологических заболеваниях (первичная открытоугольная глаукома) и ремоделировании тканевых структур [2, 11], что представляется важным для понимания патогенеза ДР. Установленное нами повышение уровня ММП-9 в плазме крови у пожилых с непролиферативной ДР свидетельствует о том, что оно значимо способствует развитию ДР.

В отдельных публикациях указывается на участие ММП в повреждении ганглиозных клеток сетчатки и развитии нейродегенерации [16]. Кроме того, нами установлено статистически значимое повышение в плазме крови у пациентов 60–74 лет с непролиферативной ДР уровня ММП-2, обладающей противовоспалительной направленностью действия. Однако ММП-9 и -2

Таблица 3

Величины константы и переменных для ММП-2 и ММП-9 в плазме крови у пациентов основной группы

Показатель	Величина переменной	$p$
ММП-2 ( $X_1$ )	3,892	<0,001
ММП-9 ( $X_2$ )	2,458	<0,001
Величина константы	28,315	–

Содержание матриксных металлопротеиназ (ММП) в плазме крови у пациентов пожилого возраста основной и контрольной групп,  $M \pm m$

Показатель, нг/мл	Основная группа, $n=63$	Контрольная группа, $n=56$	$p$
ММП-2	269,8±4,2	221,9±3,6	<0,001
ММП-9	55,7±2,6	40,2±1,9	

не используют для прогнозирования обсуждаемой нозологической формы.

Вместе с тем, показана прогностическая значимость ММП в формировании первичной открытоугольной глаукомы [8] на основании выявленного повышения содержания ММП-2, вызывающей изменение внеклеточного процесса и ремоделирование тканевых структур органа зрения, обуславливая нарушение оттока внутриглазной жидкости, что способствует развитию первичной открытоугольной глаукомы [8].

Для прогнозирования риска ДР у больных СД предлагается использовать содержание тромбоцитов в периферической крови [6]. Авторами была показана возможность прогнозирования стадии ДР на основе величины агрегации тромбоцитов и уровня коллагена, отражающего результат ремоделирования межклеточного матрикса. Связь с вышеуказанными факторами оказалась нелинейной, в результате чего построена нейросетевая модель прогнозирования стадии ДР. Площадь под ROC-кривой для нейросетевой модели составила 0,82 (95% ДИ 0,73–0,89), что свидетельствовало об адекватности построенной модели прогнозирования стадии ДР [6].

Известен также способ прогнозирования прогрессирования ДР у пациентов с СД по уровню гликозилированного гемоглобина в плазме крови и фактора эндотелия сосудов (VEGF) в слезной жидкости, выявленного методом твердофазного ИФА [7], а затем проведение оптической когерентной томографии, фундус-микрпериметрии и выполнение сложной математической обработки полученных результатов, включающей несколько формул и последовательное вычисление критериев  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ . На основе корреляционного метода выявляют взаимосвязи критериев  $R_1$ – $R_4$ , определяют величину интегрального критерия ( $R_{\text{общ}}$ ) прогрессирования ДР по формуле:  $R_{\text{общ}} = R_1 \cdot R_2 \cdot R_3 \cdot R_4$ , при значении  $R_{\text{общ}} \leq 0,07$  диагностируют непролиферативную стадию ДР и прогнозируют низкий риск прогрессирования, а при величине  $0,07 < R_{\text{общ}} < 0,18$  диагностируют непрелиферативную стадию ДР и высокий риск прогрессирования. При величине  $0,18 \leq R_{\text{общ}} \leq 1$  диагностируют пролиферативную стадию ДР и прогнозируют высокий риск прогрессирования ДР. Однако, как видно из выше представленной информации, данный способ в отличие от нашего не ставит своей задачей прогнозирование развития непролиферативной ДР у пожилых пациентов с СД. Кроме того, способ прогнозирования

прогрессирования ДР [7] базируется на применении пяти математических формул, корреляционно-го анализа, что требует специальной и серьезной подготовки врача-офтальмолога в области математических и статистических методов обработки данных. И наконец, этот способ предусматривает, дополнительно к определению гликолизированного гемоглобина в плазме крови и VEGF в слезной жидкости, проведение оптической когерентной томографии с определением изменения объема сетчатки по сравнению с нормой в каждом секторе сканирования и суммарного объема патологических изменений макулярной зоны сетчатки, выполнение фундус-микрпериметрии для расчета порогов чувствительности макулярной зоны сетчатки по интенсивности светового стимула. Все это в совокупности по сравнению с предложенным нами способом затрудняет использование данного метода в рутинной офтальмологической практике.

### Заключение

Непролиферативная диабетическая ретинопатия в пожилом возрасте характеризуется статистически значимым повышением в плазме крови концентрации как матриксной металлопротеиназы-9 с провоспалительной активностью, так и матриксной металлопротеиназы-2, обладающей противовоспалительной активностью, причем наибольшее увеличение уровня присуще матриксной металлопротеиназе-9. Созданная на основе показателей содержания матриксных металлопротеиназ-2 и -9 в плазме крови регрессионная модель обеспечивает прогнозирование развития непролиферативной диабетической ретинопатии на ранней стадии заболевания, что будет способствовать предупреждению прогрессирования в более тяжелые стадии — препролиферативную и пролиферативную диабетическую ретинопатию за счет раннего начала выполнения лечебных мер.

Конфликт интересов отсутствует.

### Литература

1. Астахов Ю.С., Нероев В.В., Шестакова М.В. и др. Клинические рекомендации «Сахарный диабет: диабетическая ретинопатия, макулярный отёк диабетический». М.: Общероссийская общественная организация «Ассоциация врачей-офтальмологов», 2013.
2. Григорьевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2019. № 2. С. 3–16. <https://doi.org/10.24411/2587-7836-2019-10040>
3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным федерального регистра сахарного диабета // Сахарный диабет. 2017. Т. 20, № 1. С. 13–41. <https://doi.org/10.14341/DM8664>

4. Казарян А.А., Овсепян Т.Р., Шишкин М.М. Прогноз наличия диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа // Современные технологии в офтальмологии. 2016. № 1. С. 100–104.
5. Коняев Д.А. Взаимосвязь показателей интерлейкинового профиля и оксидативной системы крови у пожилых больных возрастной макулярной дегенерацией с поздней стадией // Науч. результаты биомед. исследований. 2020. Т. 6, № 1. С. 118–125. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-10>
6. Могилевский С.Ю., Панченко Ю.А., Зяблицев С.В. Прогнозирование риска диабетического макулярного отёка при диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа // Офтальмолог. журн. 2019. № 3. С. 3–8.
7. Моштова Л.К., Воробьёва И.В., Меркушенкова Д.А. и др. Способ прогнозирования прогрессирования диабетической ретинопатии и диабетического макулярного отёка: Патент РФ №2520826, 2014.
8. Черных В.В., Коненков В.И., Орлов Н.Б. и др. Содержание матричных металлопротеиназ во внутриглазной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // Сибирский науч. мед. журн. 2020. Т. 40, № 5. С. 73–78. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200508>
9. Bhatt L.K., Addepalli V. Attenuation of diabetic retinopathy by enhanced inhibition of MMP-2 and MMP-9 using aspirin and minocycline in streptozotocin-diabetic rats // Amer. J. Transl. Res. 2010. Vol. 2, № 2. P. 181–189.
10. Burton M.J., Ramke J., Marques A.P. The Lancet Global Health Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020 // Lancet Global Hlth. 2021. Vol 9, № 4. P. e489–e551. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30488-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30488-5)
11. Cui N., Hu M., Khalil R.A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases // Prog. Molec. Biol. Transl. Sci. 2017. Vol. 147. P. 1–73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>
12. Duh E.J., Sun J.K., Stitt A.W. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies // JCI Insight. 2017. Vol. 2, № 14. P. e93751. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93751>
13. Flaxman S.R., Bourne R.A., Resnikoff S. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis // Lancet Global Hlth. 2017. Vol. 5, № 12. P. e1221–e1234. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30393-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30393-5)
14. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition // Diabetes Res. Clin. Pract. 2019. Vol. 157. P. 107843. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
15. Santos J.M., Mohammad G., Zhong Q. Diabetic retinopathy, superoxide damage and antioxidants // Curr. Pharm. Biotechnol. 2011. Vol. 12, № 3. P. 352–361. <https://doi.org/10.2174/138920111794480507>
16. Zhang J.F., Wang G.L., Zhou Z.J. et al. Expression of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and interleukins in vertebral cartilage endplate // Orthop. Surg. 2018. Vol. 10, № 4. P. 306–311. <https://doi.org/10.1111/os.12409>

Поступила в редакцию 14.10.2021  
 После доработки 12.04.2022  
 Принята к публикации 21.04.2022

Adv. geront. 2022. Vol. 35. № 3. P. 408–412

O.L. Fabrikantov<sup>1</sup>, I.V. Lev<sup>1</sup>, N.M. Agarkov<sup>2</sup>, R.E. Osmanov<sup>1</sup>

#### PROGNOSTIC VALUE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE DEVELOPMENT OF DIABETIC RETINOPATHY IN THE ELDERLY

<sup>1</sup> S.N. Fedorov National Medical Research Center «MNTK Eye Microsurgery», Tambov branch, 1 Rasskazovskoe highway, Tambov 392000; <sup>2</sup> South-Western State University, 94 str. 50 years of October, Kursk 305040, e-mail: vitalaxen@mail.ru

The development of diabetic retinopathy is associated with matrix metalloproteinases, but they are rarely used to predict this pathology. The aim of the study was to predict the development of non-proliferative diabetic retinopathy in old age by the level of matrix metalloproteinases in blood plasma. The main study group consisted of 63 patients aged 60–74 years with type 2 diabetes mellitus and non-proliferative diabetic retinopathy, the control was 56 patients of the same age with type 2 diabetes mellitus and the absence of diabetic retinopathy and other ophthalmopathology at present and in the anamnesis. Examination of patients of both groups included: tonometry, visometry, standard fundus photoregistration, optical coherence tomography, optical coherence tomography-A, fluorescent angiography. Determination of matrix metalloproteinases was carried out by the method of solid-phase enzyme immunoassay. There was a statistically significant increase in matrix metalloproteinase-9 in the main group of patients to 55,7±2,6 ng/ml versus 40,2±1,9 ng/ml in the age control, matrix metalloproteinase-2 to 269,8±4,2 ng/ml versus 221,9±3,6 ng/ml, respectively. Based on the level of matrix metalloproteinases-2 ( $X_1$ ) and -9 ( $X_2$ ) in the blood, a regression model was created by the regression method to predict the development of diabetic retinopathy, having the form  $Y=28,315+3,892 \cdot X_1+2,453 \cdot X_2$ , which will allow detecting the disease at an early stage.

**Key words:** diabetic retinopathy, matrix metalloproteinases, advanced age, prediction