

© Коллектив авторов, 2019  
удк 617.753.2

Казимирский А.Н.<sup>1</sup>, Салмаси Ж.М.<sup>1</sup>, Хамнагдаева Н.В.<sup>1,2</sup>, Обрубов С.А.<sup>1</sup>, Семенова Л.Ю.<sup>1</sup>, Порядин Г.В.<sup>1</sup>

## Нарушение метаболизма ретинола – важное патогенетическое звено формирования осевой близорукости

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

<sup>2</sup>ФГБУ «Центральная клиническая больница» Управления делами Президента Российской Федерации, 121359, г. Москва, Россия, ул. Маршала Тимошенко д. 15

**Цель исследования** – определение изменений в экспрессии поверхностных рецепторов лимфоцитов, содержание малонового диальдегида и витамина А в периферической крови у пациентов с миопией по сравнению со здоровыми донорами и построение модели патогенеза.

**Методы.** В исследовании приняли участие 38 детей с приобретенной близорукостью средней степени и отсутствием сопутствующих хронических заболеваний, 35 детей составили группу контроля. Возраст детей варьировал от 11 до 17 лет. Методом непрямой иммунофлюоресценции используя моноклональные антитела определяли количество лимфоцитов экспрессирующих CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, CD38, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54, а также мембранные иммуноглобулины mIgM и mIgG. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови и витамина А в плазме крови определяли традиционными биохимическими методами.

**Результаты.** У пациентов с миопией обнаружено увеличение числа CD20, CD54 и CD95 позитивных лимфоцитов. Выявленные нарушения со стороны иммунной системы носят вторичный характер. Уровень малонового диальдегида в крови у больных миопией был повышен, а витамина А снижен по сравнению с контролем. На основе этих данных предложена модель патогенеза, в которой центральное место занимает нарушение процесса физиологической регенерации фоторецепторных дисков. Замедленное поглощение клетками пигментного эпителия и ослабление процесса внутриклеточного гидролиза их компонентов вызывают активацию перекисного окисления липидов, образование малонового диальдегида, повреждение сосудистого эндотелия и фибробластов склеры. Процесс ремоделирования фибробластов лимитирован метаболитами, поступающими через поврежденный эндотелий, что приводит к синтезу непрочного коллагена V типа с короткими цепями. Увеличение осевых размеров глаза при миопии – это растяжение и ослабление склеры глаза, связанное с развитием в соединительной ткани дистрофического процесса.

**Заключение.** Патогенетически обоснованная терапия миопии должна быть направлена на увеличение функциональной активности клеток пигментного эпителия.

**Ключевые слова:** миопия; патогенез; CD20; CD54; CD95; ПОЛ; МДА.

**Для цитирования:** Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Хамнагдаева Н.В., Обрубов С.А., Семенова Л.Ю., Порядин Г.В. Нарушение метаболизма ретинола – важное патогенетическое звено формирования осевой близорукости. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(4): 110-114.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.04.110-114

**Для корреспонденции:** Казимирский А.Н., e-mail: alnica10@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила** 23.01.2019

**Kazimirsky A.N.<sup>1</sup>, Salmasi J.M.<sup>1</sup>, Khamnagdayeva N.V.<sup>1,2</sup>, Obrubov S.A.<sup>1</sup>, Semenova L.Yu.<sup>1</sup>, Poryadin G.V.<sup>1</sup>**

### Disorders in retinol metabolism as an important part in the pathogenesis of myopia

<sup>1</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,  
Ostrovityanova Str. 1, Moscow, 117997, Russian Federation;

<sup>2</sup>The Central Clinical Hospital of the Presidential Administration

**Aim.** Determination of changes in expression of lymphocyte surface receptors and concentrations of malonic dialdehyde and vitamin A in peripheral blood of patients with myopia as compared to healthy donors, and creation of a pathogenetic model.

**Methods.** This study included 38 children with acquired moderate myopia without concurrent chronic diseases; 35 children constituted a control group. The children were 11 to 17 years old. The amount of lymphocytes expressing CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, CD38, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54, and membrane immunoglobulins mIgM and mIgG was determined

using the indirect immunofluorescence method with monoclonal antibodies. Concentrations of malonic dialdehyde (MDA) in blood and vitamin A in plasma were measured by traditional biochemical methods.

**Results.** Patients with myopia had increased amounts of CD20-, CD54-, and CD95-positive lymphocytes. The observed immune disorders were secondary. The blood concentration of MDA was increased, and the vitamin A concentration was decreased in myopia patients compared to the control. Based on these data a pathogenetic model was proposed, in which disordered physiological regeneration of photoreceptor disks took the central place. The delayed absorption of pigment epithelial cells and impaired intracellular hydrolysis of their components result in activation of lipid peroxidation, formation of MDA, and damages of the vascular endothelium and scleral fibroblasts. The process of fibroblast remodeling is limited by influx of metabolites through the damaged endothelium, which induces synthesis of weak type V collagen with short chains. Pathogenetically substantiated therapy of myopia should be aimed at increasing the functional activity of pigment epithelial cells.

**Keywords:** myopia; pathogenesis; CD20; CD54; CD95; ROS; MDA.

**For citation:** Kazimirsky A.N., Salmasi J.M., Khamnagdayeva N.V., Obrubov S.A., Semenova L.Yu., Poryadin G.V. Disorders in retinol metabolism as an important part in the pathogenesis of myopia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(4): 110-114. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.04.110-114

**For correspondens:** *Kazimirskiy Alexander N.*, PhD, professor, Leading Researcher of the Molecular Technology department of Research institute of Translational medicine of Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Ostrovityanova st.1. E-mail: alnica10@mail.ru

**Information about authors:**

Kazimirsky A.N., <http://orcid.org/0000-0002-3079-4089>

Salmasi J.M., <http://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Khamnagdayeva N.V., <http://orcid.org/0000-0003-1167-9226>

Obrubov S.A., <https://orcid.org/0000-0003-0287-3123>

Semenova L.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-1000-0453>

Poryadin G.V., <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 23.01.2019

## Введение

Масштабы распространения близорукости можно охарактеризовать как глобальную эпидемию. В настоящее время доля населения с миопией в азиатских странах достигает 80% и 40% – в западных странах [1]. В последнее время наблюдается значительный прирост близорукости у детей и подростков [2].

## Методика

В исследовании приняли участие 38 детей с приобретенной близорукостью средней степени и отсутствием сопутствующих хронических заболеваний, 35 детей составили группу контроля. Возраст детей варьировал от 11 до 17 лет.

Оценку относительного и абсолютного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, CD38, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54 и мембранные иммуноглобулины mIgM и mIgG проводили методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител (ИКО).

Уровень ретинола в крови определяли спектрофотометрически по методу Бессей [3]. Определение ма-

лонового диальдегида (МДА) в крови проводили с использованием тиобарбитуровой кислоты.

## Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных показал, что у детей с близорукостью отмечалось статистически значимое ( $p < 0,05$ ) повышение количества лимфоцитов, экспрессирующих CD20<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> и ICAM-1(CD54<sup>+</sup>).

Результаты проведенного исследования показали отсутствие статистически значимых изменений в количестве Т-лимфоцитов и НК-клеток в периферической крови по сравнению с соответствующими параметрами здоровых детей.

Исследование В-лимфоцитов и их субпопуляций показало неоднозначность их изменения. Так отсутствовали различия в содержании В-лимфоцитов, несущих поверхностный IgG (mIgG<sup>+</sup>-клетки), IgM (mIgM<sup>+</sup>-клетки), CD38<sup>+</sup> лимфоциты (предшественники плазматических клеток), а также CD72<sup>+</sup>-клетки (зрелые В-лимфоциты, способные развивать синтез иммуноглобулинов). Вместе с тем общее количество В-лимфоцитов (CD20<sup>+</sup>-клетки) в периферической крови было стати-

стически значимо выше ( $28,03 \pm 1,90\%$ ) у пациентов с миопией по сравнению с контролем ( $20,48 \pm 1,63\%$ ). Увеличение числа только В-лимфоцитов может объяснено их пролиферацией в ответ на активационные сигналы, под действие которых попадают эти лимфоидные клетки. К сигналам активации для В-лимфоцитов, не зависящим от антигенной презентации и активационного процесса в лимфоцитах, относятся растворимая форма рецептора CD100 (sCD100), малоновый диальдегид (МДА) и аргиназа [4].

Вероятным механизмом увеличения численности В-лимфоцитов периферической крови при миопии является воздействие на В-клетки одновременно двух стимулирующих рост сигналов – sCD100, который отделяется от поверхности тромбоцитов или Т-лимфоцитов после их взаимодействия с поврежденным эндотелием сосудов сетчатки и МДА, который вызывает в хелперно-индукторных Т-лимфоцитах (Th17-клетки) синтез и секрецию IL-25 активатора пролиферации В-лимфоцитов [4]. Имеются данные по инициации тканевого повреждения под действием sCD100. Так, у пациентов с ревматоидным артритом sCD100 индуцирует образование TNF $\alpha$  и образование IL-6 в CD14<sup>+</sup>-клетках, что вызывает активацию металлопротеиназ и развитие тканевого повреждения [5].

Исследование ранних (CD25 и CD71) и поздних (HLA-DR) активационных антигенов лимфоцитов показывает отсутствие активационного процесса в лимфоцитах периферической крови пациентов с миопией, что свидетельствует об отсутствии процессов антигенной презентации. Вместе с тем было статистически значимо повышено число клеток экспрессирующих рецепторы запуска активационного апоптоза (CD95<sup>+</sup>-лимфоциты) с  $15,13 \pm 1,40\%$  в контроле до  $20,30 \pm 1,80\%$  у пациентов с миопией, а также рецептора межклеточной коммуникации и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов ICAM-1 (CD54). Количество ICAM-1<sup>+</sup>-лимфоцитов возрастает вдвое – с  $12,96 \pm 1,50\%$  у здоровых детей до  $23,59 \pm 1,65\%$  у пациентов с миопией.

Увеличение количества ICAM-1<sup>+</sup>-лимфоцитов обнаруживается при воспалительных заболеваниях различного происхождения, что достаточно полно отражено в соответствующей литературе. При заболеваниях невоспалительной природы ICAM-1<sup>+</sup>-лимфоциты практически не исследованы. Вместе с тем, немногочисленные исследования показывают увеличение экспрессии этого рецептора на лимфоцитах и эндотелиальных клетках, что отражает процесс ослабления генерации оксида азота и развитие эндотелиальной дисфункции [6].

Увеличение числа CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови пациентов с миопией не сопровождается соответствующим увеличением экспрессии акти-

вационных дифференцировочных рецепторов (CD25, CD71 и HLA-DR), как это наблюдается при воспалительных заболеваниях различного генеза [7]. Полученные результаты указывают на то, что увеличение количества лимфоцитов, несущих поверхностный рецептор запуска апоптоза CD95 не связано с активационным процессом в лимфоцитах. Анализ данных иммунологического исследования косвенно показывает, что миопия не является заболеванием воспалительной природы, которое сопровождается повреждением сосудистого эндотелия и активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Исследование биохимических параметров больных миопией показало, что концентрация МДА – конечного продукта ПОЛ в крови пациентов с миопией увеличивается и составляет  $2,96 \pm 0,12$  мкМ, вдвое превышая контрольный уровень, наблюдаемый у здоровых детей ( $1,48 \pm 0,09$  мкМ). Эти результаты подтверждаются данными исследования [8], где демонстрируется зависимость увеличения концентрации МДА в крови от степени миопии. Повышение концентрации МДА в крови пациентов с миопией подтверждает усиление окислительных процессов и, в частности, активацию ПОЛ при этом заболевании. В исследованной группе больных миопией обнаружено снижение концентрации витамина А в плазме крови –  $0,95 \pm 0,04$  мкМ при  $1,43 \pm 0,04$  мкМ в контроле у здоровых детей. Снижение концентрации витамина А отражает его окисление и превращение в транс-ретиновую кислоту. Увеличение концентрации транс-ретиновой кислоты при миопии наблюдали и другие исследователи [9]. Получены также данные о том, что введение транс-ретиновой кислоты животным в условиях хронического эксперимента вызывает развитие миопии [10].

Продолжительное воздействие транс-ретиновой кислоты в культуре клеток пигментного эпителия кролика (ARPE-19) ингибирует развитие и значительно снижает выживаемость клеток, увеличивает экспрессию MMP-2 [11], а также индуцирует однопочечные разрывы в ДНК и увеличивает избыточную экспрессию маркеров пролиферации МК167 и неоваскуляризации VEGF-A [12].

Полученные результаты согласуются с данными других исследований и позволяют нам сформулировать модель патогенеза, в которой главным иницирующим фактором патогенеза является нарушение процесса поглощения и внутриклеточной деградации дистальных фрагментов фоторецепторных клеток в пигментном эпителии. Замедление поглощения дистальных фрагментов фоторецепторных клеток ведет к активации окислительных процессов, что объясняет снижение концентрации витамина А и рост концен-

трации транс-ретиноевой кислоты, которая образуется из витамина А при его спонтанном окислении. Активация ПОЛ повышает концентрацию МДА, который, действуя продолжительное время, оказывает повреждающее воздействие на клетки сосудистого эндотелия, фоторецепторного слоя сетчатки и фибробласты склеры. Увеличение осевых размеров глаза при миопии — растяжение и ослабление склеры глаза, связанные с развитием в соединительной ткани дистрофического процесса. Ремоделирование соединительной ткани склеры развивается на фоне ослабленного переноса необходимых метаболитов через поврежденный эндотелий, что провоцирует синтез непрочного коллагена V типа с короткими цепями.

Выявленные изменения со стороны иммунной системы при миопии являются вторичными и связаны, по-видимому, с нарушением метаболизма ретинола.

По нашему мнению, патогенетически обоснованная терапия миопии должна быть направлена на увеличение функциональной активности клеток пигментного эпителия для создания оптимальных условий функционирования фоторецепторных клеток.

### Литература

1. Morgan I.G., French A.N., Ashby R.S., Guo X., Ding X., He M., Rose K.A. The epidemics of myopia: Aetiology and prevention. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 62: 134-49. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.09.004.
2. Обрубов С.А., Хамнагдаева Н.В., Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. Экспериментальные модели осевой близорукости. Подходы к изучению механизмов развития. *Российская детская офтальмология.* 2015; 2: 58-66.
3. Bessey O.A. Lowry O.H. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J. Biol. Chem.* 1946; 166(1): 177-88.
4. Казимирский А.Н., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Семенова Л.Ю. Эндогенные регуляторы иммунной системы (sCD100, малоновый диальдегид, аргиназа). *Бюл. exper. биол. и мед.* 2017; 164(11): 652-60.
5. Yoshida Y., Ogata A., Kang S., Ebina K., Shi K., Nojima S., et al. Semaphorin 4D contributes to rheumatoid arthritis by inducing inflammatory cytokine production: pathogenic and therapeutic implications. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(6): 1481-90.
6. Carreau A., Kieda C., Grillon C. Nitric oxide modulates the expression of endothelial cell adhesion molecules involved in angiogenesis and leukocyte recruitment. *Exp Cell Res.* 2011; 317(1): 29-41.
7. Порядин Г.В., Оршанко А.М., Салмаси Ж.М., Латышева Т.В., Казимирский А.Н. Активационные процессы в лимфоцитах пациентов с латентной сенсibilizацией. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2009; 1: 23-4.
8. Матвеев А.В., Гусева М.Р., Маркова Е.Ю., Ульшина Л.В., Кузнецова Ю.Д. Коррекция оксидативного стресса и гемодинамических изменений при миопии и нарушениях аккомодации у детей. *Российская педиатрическая офтальмология.* 2012; 1: 25-8.
9. Обрубов С.А., Румянцев А.Г., Демидова М.Ю., Беспалюк Ю.Г., Бограш Г.И., Иванова А.О., Кузнецова Е.А. Частота близорукости и структура сочетанной с ней экстраокулярной патоло-

гии у детей общеобразовательного учреждения. *Российская педиатрическая офтальмология.* 2008; 4: 5-7.

10. Хамнагдаева Н.В., Обрубов С.А., Семенова Л.Ю., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Казимирский А.Н., Кузнецова Ю.Д. Влияние All-trans ретиноевой кислоты на культуру склеральных фибробластов кролика. *Российская детская офтальмология.* 2016; 3: 18-23.
11. Xing B. Function of all-trans retinoic acid observation on similar myopia changes in cultivated rabbit retinal pigment epithelium and relation with myopia relevant factors. *Pak J Pharm Sci.* 2016; 29(2): 731-35.
12. Tokarz P., Piastowska-Ciesielska A.W., Kaamiranta K., Blasiak J. All-Trans Retinoic Acid Modulates DNA Damage Response and the Expression of the VEGF-A and MKI67 Genes in ARPE-19 Cells Subjected to Oxidative Stress. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(6) E898. doi: 10.3390/ijms17060898.

### References

1. Morgan I.G., French A.N., Ashby R.S., Guo X., Ding X., He M., Rose K.A. The epidemics of myopia: Aetiology and prevention. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 62: 134-49. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.09.004.
2. Obrubov S.A., Khamnagdaeva N.V., Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Salmasi J.M. Experimental models of axial myopia. Approaches to the study of development mechanisms. *Rossiyskaya detskaya oftal'mologiya* 2015; (2): 58-66. (in Russian)
3. Bessey O.A. Lowry O.H. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J. Biol. Chem.* 1946; 166(1): 177-88.
4. Kazimirsky A.N., Poryadin G.V., Salmasi J.M., Semenova L.Yu. Endogenous regulators of the immune system (sCD100, Malonaldehyde, arginase). *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2017; 164(11): 652-60. (in Russian)
5. Yoshida Y., Ogata A., Kang S., Ebina K., Shi K., Nojima S., et al. Semaphorin 4D contributes to rheumatoid arthritis by inducing inflammatory cytokine production: pathogenic and therapeutic implications. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67 (6): 1481-90.
6. Carreau A., Kieda C., Grillon C. Nitric oxide modulates the expression of endothelial cell adhesion molecules involved in angiogenesis and leukocyte recruitment. *Exp Cell Res.* 2011; 317(1): 29-41.
7. Poryadin G.V., Orshanko A.M., Salmasi J.M., Latysheva T.V., Kazimirsky A.N. Activation processes in lymphocytes of patients with latent sensitization. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2009; (1): 23-4. (in Russian)
8. Matveev A.V., Guseva M.R., Markova E.Y., Ul'shina L.V., Kuznetsova Y.D. Correction of oxidative stress and hemodynamic changes in myopia and accommodation disorders in children. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya.* 2012; (1): 25-8. (in Russian)
9. Obrubov S.A., Rumyantsev A.G., Demidova M.Y., Bepalyuk Y.G., Bogrash G.I., Ivanova A.O., Kuznetsova E.A. The frequency of myopia and the structure of combined extraocular pathology in children of General education institutions. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya.* 2008; (4): 5-7. (in Russian)
10. Khamnagdaeva N.V., Obrubov S.A., Semenova L.Yu., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Kazimirsky A.N., Kuznetsova Yu.D. Effect of all-trans retinoic acid on rabbit scleral fibroblast culture. *Rossiyskaya detskaya oftal'mologiya.* 2016; (3): 18-23. (in Russian)
11. Xing B. Function of all-trans retinoic acid observation on similar myopia changes in cultivated rabbit retinal pigment epithelium and relation with myopia relevant factors. *Pak J Pharm Sci.* 2016; 29(2): 731-35.
12. Tokarz P., Piastowska-Ciesielska A.W., Kaamiranta K., Blasiak J. All-Trans Retinoic Acid Modulates DNA Damage Response and the Expression of the VEGF-A and MKI67 Genes in ARPE-19 Cells Subjected to Oxidative Stress. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(6) E898. doi: 10.3390/ijms17060898.

**Сведения об авторах:**

**Казимирский Александр Николаевич**, доктор биол. наук, доцент, вед. науч. сотр. отдела молекулярных технологий «НИИ трансляционной медицины» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, e-mail: alnica10@mail.ru;

**Салмаси Жан Мустафиевич**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, e-mail: Profjms@yandex.ru;

**Хамнагаева Надежда Вениаминовна**, канд. мед. наук, ст. преподаватель каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента РФ, e-mail: Lyssa\_ash@mail.ru;

**Обрубов С.А.**, доктор мед. наук, проф., каф. офтальмологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, e-mail: Obrubovs@yandex.ru;

**Семенова Л.Ю.**, доктор мед. наук, доцент, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, e-mail: Semenovaly@mail.ru;

**Порядин Г.В.**, доктор мед. наук, член-корр. РАН, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.