

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Иванова Н. В.¹, Ярошева Н. А.², Ярошева Л. М.³

1. Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой офтальмологии «Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С. И. Георгиевского» (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» +7(978)040-49-83, <https://orcid.org/0000-0001-8321-6111>
2. Кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии «Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С. И. Георгиевского» (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского», nitus@yandex.ru, +7(978)722-68-15 <https://orcid.org/0000-0002-1084-5635>
3. Врач-офтальмолог, зав.1 офтальмологическим отделением МОЦ ГБУЗ РК «РКБ имени Н. А. Семашко»

Аннотация. Актуальность. Кверцетин обладает свойствами ингибитора ряда оксидазных ферментов, мощного антиоксиданта, препарата, способствующего нейтрализации окиси азота в ишемизированных тканях и соответственно выраженным мембраностабилизирующим действием. **Цель исследования.** Обосновать применение флавоноида (кверцетина) при диабетической ретинопатии (ДР). **Материалы и методы.** Материалом служила сыворотка крови пациентов СД, исследования проводились in vitro. Обследовано 129 пациентов с ДР, разделенных на группы. Контролем служили 24 здоровых донора в соответствующем возрастном диапазоне. **Результаты и заключение.** Выявленное нарастание синтеза мононуклеарными лейкоцитами провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , по мере нарастания степени тяжести ангиопатии, у пациентов с ДР, может быть расценена как важная патогенетическая «составляющая» прогрессирования ангиопатии. Гипергликемия- и инсулинзависимый лейкоцито (лимфоцито)-опосредованный механизм формирования цитокинового дисбаланса является существенным механизмом прогрессирования ДР. Нами установлено, что при ДР существует статистически достоверное влияние флавоноида (кверцетина) на функциональную активность мононуклеарных клеток, что позволяет рекомендовать его для лечения ДР.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, флавоноид (кверцетин), цитокины.

Для цитирования:

Иванова Н. В., Ярошева Н. А., Ярошева Л. М. Обоснование применения кверцетина при диабетической ретинопатии. Передовая офтальмология. 2024;8(2):55-58.

JUSTIFICATION OF THE USE OF QUERCETIN IN DIABETIC RETINOPATHY

Ivanova N. V.¹, Yarosheva N. A.², Yarosheva L. M.³

1. Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Ophthalmology «Order of the Red Banner of Labor S. I. Georgievsky Medical Institute» (structural unit) of the Federal State Educational Institution of Higher Education «V. I. Vernadsky KFU» +7(978)040-49-83 <https://orcid.org/0000-0001-8321-6111>
2. Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Ophthalmology «Order of the Red Banner of Labor S. I. Georgievsky Medical Institute» (structural unit) of the Federal State Educational Institution of Higher Education «V. I. Vernadsky KFU» nitus@yandex.ru +7(978)722-68-15 <https://orcid.org/0000-0002-1084-5635>
3. Ophthalmologist, head.1 ophthalmological department of the MOC GBUZ RK «RKB named after N. A. Semashko»

Annotation. Relevance. Quercetin has the properties of an inhibitor of a number of oxidase enzymes, a powerful antioxidant, a drug that helps neutralize nitric oxide in ischemic tissues and, accordingly, a pronounced membrane stabilizing effect. **Purpose of the study** is to substantiate the use of flavonoid (quercetin) in diabetic retinopathy (DR). **Materials and methods.** The study material was the blood serum of DM patients, the studies were conducted in vitro. 129 patients with DR were examined, divided into groups. The control consisted of 24 healthy donors in the appropriate age range. **Results and conclusion.** The revealed increase in the synthesis of proinflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α by mononuclear leukocytes, as the severity of angiopathy increases in patients with DR, can be regarded as an important pathogenetic «component» of the progression of angiopathy. Hyperglycemia- and insulin-dependent leukocyte (lymphocyte)-mediated mechanism of cytokine imbalance formation is an essential mechanism for the progression of DR. We have established that in DR there is a statistically significant effect of flavonoid (quercetin) on the functional activity of mononuclear cells, which allows us to recommend it for the treatment of DR.

Key words: diabetic retinopathy, flavonoid (quercetin), cytokines.

For citation:

Ivanova N. V., Yarosheva N. A., Yarosheva L. M. Justification of the use of quercetin in diabetic retinopathy. Advanced ophthalmology. 2024;8(2):55-58.

Актуальность. Флавоноиды (кверцетин), относятся к нетоксичным полифенольным соединениям — способным обрывать цепные свободнорадикальные реакции, изменять активность различных ферментов; прямо и опосредованно (через антиоксидантный эффект) модулировать цитокиновый потенциал и др. [2, 6, 7]. Кверцетин обладает свойствами ингибитора ряда оксидазных ферментов, мощного антиоксиданта, препарата, способствующего нейтрализации окиси азота в ишемизированных тканях и соответственно выраженным мембраностабилизирующим действием [6,7].

К основным патогенетическим механизмам развития диабетической ретинопатии (ДР) относится цитокиновый дисбаланс даже у пациентов с коротким стажем течения сахарного диабета (СД) [5]. Цитокины играют ключевую роль в иммуногенезе и участвуют в процессах взаимодействия иммунной, эндокринной и нервной систем [3].

Цель исследования обосновать применение флавоноида (кверцетина) при диабетической ретинопатии.

Материалы и методы исследования.

Материалом исследования служили сыворотка крови пациентов с СД, исследования проводились *in vitro*. Обследовано 119 пациентов с ДР: 1-я группа — 14 пациентов с непролиферативной ДР (НДР), 2-я группа — 39 пациентов с препролиферативной ДР (ППДР), 3-ю группу составили 42 пациента с пролиферативной ДР (ПДР). Контролем служили 24 здоровых донора в соответствующем возрастном диапазоне.

Концентрацию цитокинов IL-1 β и IL-4 в сыворотке крови и культуральной среде культуры клеток определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов (ООО «Цитокины» IL-1, протеиновый контур — TNF- α , IL-4). Оценка результатов осуществляется фотометрически.

Проводились также эксперименты с определением уровня TNF- α в культуральной среде без и с преинкубацией культивируемых клеток с р-ром глюкозы, инсулина, липополисахариды (LPS) [9].

Серия экспериментов Эксперимент 1 — определяли уровень цитокинов в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток пациентов ДР; эксперимент 2 — определяли уровень цитокинов в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток пациентов ДР под влиянием введения в культуральную среду 5,5 ммоль/л глюкозы; эксперимент 3 — определяли уровень цитокинов в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток пациентов ДР под влиянием введения глюкозы(инсулина) и флавоноида (кверцетина).

Статистическую обработку полученных результатов выполняли параметрическим методом вариационной статистики при помощи критерия

Стьюдента -Фишера на персональном компьютере. Различия между средними величинами считали достоверными, если доверительный коэффициент (t-) соответствовал доверительной вероятности по таблице Стьюдента не менее 95% ($p < 0,05$).

Результаты исследования. Кверцетин-зависимая динамика глюкозо-индуцированного уровня цитокинов в культуральной жидкости культуры мононуклеарных клеток пациентов с НДР, ППДР и ПДР в исследовании *in vitro*.

В культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у пациентов НДР уровень цитокина IL-1 β значительно ниже, чем в системном кровотоке у здоровых лиц (контроль) и составляет $13,01 \pm 0,36$ пг/мл. В эксперименте 2, под влиянием введения в культуральную среду 5,5 ммоль/л глюкозы, исследованный показатель возрастает на 33,8% ($p < 0,001$), а в культуральной экспериментальной модели с кверцетином (эксперимент 3(глюкоза)) — статистически значимо снижается на 14,4% ($p < 0,01$).

У пациентов ППДР и ПДР исходный (в эксперименте 1) уровень IL-1 β соответственно на 95,7% ($p2 < 0,001$) и 148,0% ($p2 < 0,001$) выше, чем у пациентов с НДР и статистически значимо не меняется под влиянием введения в культуральную среду глюкозы. Можно предположить, что у пациентов СД с более длительным стажем течения заболевания и с более высокими цифрами гипергликемии имеет место полная реализация *in vivo* глюкозо-индуцированной функциональной активности мононуклеаров, что и проявляется отсутствием глюкозо-индуцированного синтеза IL-1 β в витральном культуральном эксперименте.

Вместе с тем у пациентов ППДР и ПДР сохраняется кверцетин-зависимое снижение синтеза IL-1 β в культуре клеток: в эксперименте 3(глюкоза), уровень IL-1 β снижается соответственно на 17,3% ($p < 0,01$) и 8,6% ($p < 0,05$).

Влияние кверцетина на глюкозо-индуцированный уровень IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у исследуемых пациентов (*in vitro*). Уровень цитокина IL-4, в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток, как у пациентов ППДР, так и ПДР (в эксперименте 1 в 1,6 раза ($p2 < 0,001$) выше, чем у пациентов НДР и статистически значимо не меняется в экспериментальных культуральных моделях с глюкозой и кверцетином. У пациентов НДР динамики исследованного показателя под влиянием глюкозы также не обнаружено, но в эксперименте 3(глюкоза), под влиянием кверцетина, исследованный показатель на 8,8% ($p1 < 0,02$) ниже в сравнении с экспериментом 2 у пациентов той же группы.

Таким образом, у пациентов с НДР модулирующее влияние кверцетина на глюкозо-индуцированный синтез мононуклеарными лейкоцитами IL-4 сохраняется.

Влияние кверцетина на глюкозо-индуцированный уровень — tumor necrosis factor (TNF- α) в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у исследуемых пациентов (in vitro). Нами установлено, что в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у пациентов ППДР и ПДР, исходный (в эксперименте 1) уровень цитокина TNF- α на 19,1–39,3% ($p < 0,001$) выше, чем при НДР.

В экспериментальных культуральных моделях с глюкозой динамика исследованного показателя выявлена только при НДР и ППДР: уровень TNF- α в культуральной среде возрастает соответственно на 11,4% ($p < 0,05$) и 14,3% ($p < 0,01$). В эксперименте 3 (глюкоза), уровень TNF- α у пациентов с НДР снижается в сравнении с экспериментом 2 на 19,0% ($p < 0,001$), у пациентов с ППДР и ПДР — соответственно на 22,7% ($p < 0,02$, $p < 0,001$) и 21,8% ($p < 0,01$, $p < 0,001$).

Таким образом, нами установлено, что под влиянием гипергликемии у пациентов СД с ДР может возрастать лейкоцито (лимфоцито)-зависимый уровень провоспалительных цитокинов местно, на уровне тканей глаза. В отличие от эритроцитов и тромбоцитов лейкоциты в русле крови не выполняют никаких функций, кровотоком служат лишь для их транспорта; функционируют лейкоциты в органах и тканях, куда они мигрируют. В кровотоке же находится не более 1–2% всех лейкоцитов организма [1].

Представленные результаты наших исследований, могут расцениваться как патофизиологическое обоснование использования флавоноида (кверцетина) для коррекции дисбаланса цитокинового гомеостаза у пациентов с ДР, прежде всего — препролиферативной и пролиферативной стадии.

Под влиянием главного лекарственного средства — инсулина у пациентов с СД возрастает синтез эндотелиальными клетками (также имеющими рецепторы к инсулину) ET-1, возрастает синтез vWf, подавляется фибринолитическая активность клеток эндотелия, что приводит к повреждению эндотелия несбалансированно высоким образованием фибрина и тромбина, а также к формированию условий для агрегации тромбоцитов [4].

В культуре клеток адипоцитов, в условиях экспериментальной модели острого воспаления, установлено, что синтезируемые клетками цитокины снижают активацию на клетках инсулиновых рецепторов и уменьшают стимулированное инсулином поглощение клетками глюкозы. По мнению авторов, указанный «цитокин-зависимый» механизм может лежать в основе формирования инсулинорезистентности у больных СД [8].

Указанные факты, по нашему мнению, являются весомой аргументацией для проведения научных исследований по проблеме инсулин-зависимой функциональной (включая цитокин-

продуцирующей) активности мононуклеарных лейкоцитов, а также возможности использования флавоноида (кверцетина) для коррекции выявленных инсулин-опосредованных нарушений.

Результаты исследования кверцетин-зависимой динамики на инсулинзависимый уровень цитокинов в культуральной жидкости культуры мононуклеарных клеток пациентов с НДР, ППДР, ПДР, в исследовании in vitro.

В культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у пациентов с НДР уровень цитокина IL-1 β в инкубационных экспериментальных моделях с инсулином и кверцетином существенно не меняется. У пациентов с ППДР и ПДР уровень IL-1 β под влиянием инсулина статистически значимо возрастает на 13,7–15,4% ($p < 0,01$). Можно предположить, что у пациентов с СД с более длительным стажем течения заболевания формируется инсулинзависимый механизм формирования цитокинового (IL-1 β) дисбаланса.

Также установлено, что только у пациентов с ППДР и ПДР в эксперименте с кверцетином выявлена не только отмена инсулинзависимого повышения синтеза мононуклеарами IL-1 β (на 22,0–27,0%, $p < 0,001$), но и достоверное снижение независимого от инсулина синтеза цитокина мононуклеарными лейкоцитами ($p < 0,001$).

Влияние флавоноида (кверцетина) на инсулинзависимый уровень IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у пациентов с НДР, ППДР, ПДР в исследовании in vitro. В культуральной среде культуры мононуклеарных клеток динамики уровня цитокина IL-4 под влиянием инсулина, а также кверцетина не обнаружено.

Влияние флавоноида (кверцетина) на инсулинзависимый уровень tumor necrosis factor (TNF- α) в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток у исследуемых пациентов (in vitro). В экспериментальных культуральных моделях с инсулином динамики исследованного показателя у пациентов с НДР, ППДР, и ПДР не выявлено. В эксперименте 3 под влиянием введения в культуральную среду кверцетина уровень TNF- α у пациентов 1-й группы снижается в сравнении с экспериментом 2 на 10,2% ($p < 0,05$), у пациентов ППДР и ПДР — соответственно на 12,1% ($p < 0,05$) и 14,5% ($p < 0,01$). Указанные факты позволяют утверждать, что инсулинзависимого возрастания синтеза TNF- α мононуклеарными лейкоцитами пациентов с ДР не выявлено.

Таким образом, нами установлено, что под влиянием инсулина у пациентов СД с ДР препролиферативной и пролиферативной стадии может возрастать лейкоцито (лимфоцито) — зависимый уровень провоспалительного цитокина IL-1 β , что, по нашему мнению, может расцениваться как подтверждение научной обоснованности использования флавоноида (кверцетина) для коррекции

не только глюкозо-опосредованного, но и инсулин-зависимого дисбаланса цитокинового гомеостаза у пациентов с ДР, прежде всего – ППДР и ПДР.

Закключение. Выявленное нарастание синтеза мононуклеарными лейкоцитами провоспалительных цитокинов (IL-1 β и TNF- α), по мере нарастания степени тяжести ангиопатии, у больных с ДР, может быть расценено как важная патогенетическая «составляющая» прогрессирования ангиопатии.

Установлено, что при ДР существует стати-

стически достоверное влияние флавоноида (кверцетина) на функциональную активность мононуклеарных клеток: при культивировании клеток в присутствии флавоноида (липофлавонон) уровень цитокинов IL-1 β и TNF- α в культуральной среде снижается, что позволяет рекомендовать его для лечения ДР.

Существенным механизмом прогрессирования ДР является гипергликемия- и инсулинзависимый лейкоцито(лимфоцито)-опосредованный механизм формирования цитокинового дисбаланса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунограмма в клинической практике. — М.: Наука. 1990:224 с. [Lebedev K. A., Ponyakina I. D. Immunogram V klinicheskoy praktike. — M.: Nauka. 1990: 224. (In Russ)]
2. Иванова Н. В., Ярошева Н. А. Патогенетическое обоснование применения липофлавонона у больных с различными формами диабетической ретинопатии. Клиническая фармакология. 2008;2(12): 11–16. [Ivanova N. V., Yarosheva N. A. Pathogenetic justification of the use of lipoflavone in patients with various forms of diabetic retinopathy. Clinical pharmacology. 2008;2(12): 11–16. (In Russ)].
3. Иванова Н. В., Ярошева Н. А. Роль дисбаланса цитокинового гомеостаза в патогенезе диабетической ретинопатии. Офтальмологический журнал. 2008;2: 11–14. [Ivanova N. V., Yarosheva N. A. The role of cytokine homeostasis imbalance in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Ophthalmological Journal. 2008;2: 11–14. (In Russ)]
4. Baumgartner-Parzer S. M., Waldhaus W. K. The endothelium as a metabolic and endocrine organ: its relation with insulin resistance. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 2001;109: 2:166–179. doi: 10.1055/s-2001-18579.
5. Effects of IL-4 on Conjunctival Fibroblasts: Possible Role in Ocular Cicatricial Pemphigoid / M. S. Razzaque, B.S Ahmed., C. S. Foster, A. R. Ahmed. Invest. Ophthalm. Vis. Sci; 2003;44: 3417–3423. doi:10.1167/iovs.02-1084
6. Gregory S. Kelly ND. Quercetin. Monograph. 2011;16(2):172–94.
7. Mohd R. M. Quercetin, a flavonoid antioxidant, modulates endothelium-derived nitric oxide bioavailability in diabetic rat aortas. 2007;16(4):442–7. doi: 10.1016/j.niox.2007.04.001.
8. Preadipocytes mediate lipopolysaccharide-induced inflammation and insulin resistance in primary cultures of newly differentiated human adipocytes. S.Chung, K.Lapoint, K.Martinez, et al. Endocrinology. 2006;11(147):5340–5351. doi: 10.1016/j.niox.2007.04.001.
9. Westphal O. Bacterial endotoxins: chemical and clinical aspects / Weinheim. 1984: 1–10. doi: 10.1111/j.157-695X.1996.tb00126.x

Конфликт интересов: не заявлен.

Это исследование не получило какого-либо конкретного гранта от финансирующих агентств государственных, не государственных, коммерческих или не коммерческих секторов.