

## ОЦЕНКА РОЛИ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ОГРАНИЧЕНИИ ЛОКАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЕ ГЛАЗА (НА ПРИМЕРЕ ПРЕСЕНИЛЬНОЙ КАТАРАКТЫ)

Созуракова Е.А.<sup>1,2</sup>, Громакина Е.В.<sup>1,2</sup>, Шабалдин А.В.<sup>2</sup>, Штернис Т.А.<sup>2</sup>, Седова Д.Ю.<sup>1</sup>,  
Третьяк Е.А.<sup>1</sup>, Щигарева С.О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГАУЗ КО «КОКОБ» («Кемеровская областная клиническая офтальмологическая больница»), Кемерово, e-mail: edel\_86@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Кемерово, e-mail: weit2007@yandex.ru

Уровни цитокинов в крови и во влаге передней камеры, корреляцию их концентраций и корреляцию их с микробиологической средой конъюнктивы оценивали у 33 пациентов, госпитализированных в плановом порядке в Кемеровскую областную клиническую офтальмологическую больницу (ГАУЗ КО «КОКОБ») в период с февраля 2016 г. по декабрь 2017 г. для хирургического лечения пресенильной катаракты (факоэмульсификация катаракты с имплантацией различных моделей интраокулярных линз (ИОЛ) без сопутствующей патологии. Возраст пациентов составил от 28 до 55 лет (средний возраст 47,54 ± 0,21 года). В их числе было 23 мужчины и 10 женщин. Всем пациентам в момент операции выполнен забор периферической крови для изучения концентрации цитокинов: интерлейкина 1 (IL-1b), рецепторного антагониста интерлейкина 1 (IL-1Ra), интерлейкина 4 (IL-4), интерлейкина 6 (IL-6), фактора некроза опухоли альфа (TNF-α) и интерферона альфа (INF-α), гуморальных факторов воспаления и общего анализа крови. Исследование проведено методом иммуноферментного анализа на коммерческих наборах ООО «Цитокин» г. Санкт-Петербург. Во время хирургического лечения выполнен забор влаги передней камеры для изучения концентрации цитокинов и проведения ПЦР-диагностики на вирусы простого герпеса и цитомегаловирус. Дополнительно проведено исследование на микрофлору (мазок с конъюнктивы), выполненное методом посева на кровяной агар, тиогликолевую среду, до назначения антибактериальной терапии. Проведенный корреляционный анализ выявил кандидатов на предикторы осложнений при хирургическом лечении пресенильной катаракты как на оперированном глазу, так и на парном органе зрения. Ими стали: женский пол, старший возраст (ближе к 55 лет), высокий уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в периферической крови.

Ключевые слова: катаракта, цитокины, системный воспалительный ответ.

## EVALUATION OF THE IMMUNOREGULATORY POTENTIAL ROLE IN THE LIMITATION OF LOCAL INFLAMMATION IN THE ANTERIOR EYE (ON THE EXAMPLE OF PRESENILE CATARACT)

Sozurakova E.A.<sup>1,2</sup>, Gromakina E.V.<sup>1,2</sup>, Shabaldin A.V.<sup>2</sup>, Shternis T.A.<sup>2</sup>, Sedova D.Y.<sup>1</sup>,  
Tretyak E.A.<sup>1</sup>, Shchigareva S.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo Regional Clinical Ophthalmological Hospital, Kemerovo, e-mail: edel\_86@mail.ru;

<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kemerovo, e-mail: weit2007@yandex.ru

In 33 patients who was hospitalized according to plan at the Kemerovo Regional Clinical Ophthalmological Hospital (GAUZ KO KOKOB) from February 2016 to December 2017 for the surgical treatment of presenile cataract (cataract phacoemulsification with implantation of various intraocular lens models (IOL) without concomitant pathology, was evaluated the level of cytokines in the blood and in the hydatoid of aqueous chamber, the correlation of their concentrations and their correlation with the microbial environment of the conjunctival mucosa. Patient age ranged from 28 to 55 years (mean age 47.54 + 0.21 years). Among them were 23 men and 10 women. Peripheral blood sampling was performed for all patients at the time of the operation to study the concentration of cytokines: interleukin 1 (IL-1b), receptor antagonist interleukin 1 (IL-1Ra), interleukin 4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and interferon alpha (INF-α), humoral inflammatory factors and complete blood count. The study was conducted by enzyme immunoassay on commercial sets of LLC Cytokine, St. Petersburg. During surgical treatment, hydatoid of aqueous chamber was taken to study the concentration of cytokines and PCR diagnostics for herpes simplex viruses and cytomegalovirus. Additionally, a study of the mucous membrane of the eye was conducted on the microflora (conjunctival smear was performed sowing on blood agar, thioglycolic medium), before the appointment of antibiotic therapy. The conducted correlation analysis revealed candidates for predictors of complications in the

**surgical treatment of presenile cataract on the operated eye and on the second eye. They are: female, older age (closer to 55 years old), high levels of circulating immune complexes (CIC) in peripheral blood.**

---

Keywords: cataract, cytokines, systemic inflammatory response.

Цитокины функционируют как важные медиаторы иммунных реакций, пролиферации клеток и воспалительных реакций, а также в пластических и регенераторных процессах на том или ином уровне интенсивности [1; 2].

Резидентами цитокинов в глазу являются эндотелиальные клетки задней поверхности роговицы, эпителий радужки глаза, а также иммунокомпетентные клетки, циркулирующие в сосудах склеры и радужки глаза [3; 4]. Показатели нормы для цитокинов, содержащихся во внутриглазных жидкостях здорового человека, в частности во влаге передней камеры (ВПК), неизвестны и, по понятным причинам, едва ли могут быть достоверно определены [5]. Активность этих молекул направлена на ограничение пролиферативной клеточной активности эпителиальных и эндотелиальных клеток, стимуляцию хемотаксиса в пограничные зоны передней камеры глаза клеток врожденного иммунитета с последующей активацией фаго- и пиноцитоза метаболитов и продуктов клеточного распада, а также трофическую функцию [6].

В зрелом возрасте роговица и хрусталик глаза подвержены экзогенным и эндогенным факторам, способствующим активации локального воспаления, в том числе и за счет увеличения перекисного окисления липидов, образования молекулярных структур стимулирующих клеточный врожденный иммунитет и, как следствие, синтез провоспалительных интерлейкинов (IL) и интерферонов (INF) [7]. Хрусталик является забарьерным органом, и иммунный ответ к его антигенам может быть только при нарушении гематоофтальмического барьера [8]. Существует ряд исследований, в которых доказано, что иммунное воспаление и связанная с ним продукция цитокинов являются важным звеном в патогенезе катаракты глаза [9; 10].

При выявлении системных иммунологических сдвигов (на уровне всего организма) объектом исследований служат сыворотка или плазма и белые клетки периферической крови. Исследование крови необходимо, так как многие формы офтальмопатологии служат одним из проявлений (иногда первым) системных заболеваний и/или следствием хронических, латентно протекающих инфекций, в патогенезе которых системные нарушения иммунитета играют очень важную роль. Даже в тех случаях, когда поражение глаз (например, травма или экзогенная инфекция) происходит у лиц с нормальным иммунным статусом, оно может сопровождаться и в условиях офтальмопатологии важное значение приобретает исследование местных (локальных) иммунных реакций (на уровне глаза) [7].

Исследование влаги передней камеры и параллельно периферической крови позволяет

провести оценку изменений иммунного статуса у пациентов с пресенильной катарактой.

Цель исследования: оценить причинно-следственную взаимосвязь уровней цитокинов в крови и во влаге передней камеры у пациентов при оперативном лечении катаракты (факоэмульсификация катаракты).

**Материалы и методы исследования.** Настоящее исследование одобрено Локальным этическим комитетом Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола № 21 от 24.11.2015). Набор клинического материала проведен в Государственном автономном учреждении здравоохранения Кемеровской области Клинической офтальмологической больнице (ГАУЗ КО «КОКОБ») г. Кемерово. После разъяснения условий участия в исследовании все пациенты давали письменное информированное согласие. Все исследования проведены в соответствии с этическими нормами, с согласия пациентов, после ознакомления их с условием и задачами исследования.

В настоящем исследовании было обследовано 33 пациента, в числе которых было 23 мужчины и 10 женщин, госпитализированных в плановом порядке в ГАУЗ КО «КОКОБ» в период с февраля 2016 г. по декабрь 2017 г. для хирургического лечения пресенильной катаракты (факоэмульсификация катаракты) без сопутствующей глазной и соматической патологии. Возраст пациентов от 28 до 55 лет. Критериями включения в группу было наличие у пациента не осложненной пресенильной катаракты одного глаза. При поступлении пациентов в стационар проведен сбор анамнеза по разработанной анкете, где учитывали наследственные факторы, наличие хронических соматических заболеваний, травм глаз, ранее перенесенного хирургического лечения катаракты на парном глазу или другой патологии глаз, а также инфекционные острые и хронические заболевания (гепатиты, туберкулез, сифилис, ВИЧ). При осмотре офтальмолога учитывали внутриглазное давление и остроту зрения.

Всем пациентам в момент госпитализации был выполнен забор периферической крови для исследования концентрации цитокинов, гуморальных факторов воспаления, общего анализа крови. Во время хирургического лечения катаракты глаза до вскрытия капсульного мешка проведен забор влаги передней камеры для исследования концентрации цитокинов и проведения ПЦР-диагностики на вирусы простого герпеса (ВПГ) и цитомегаловирус (ЦМВ).

Концентрацию интерлейкина 1 (IL-1b), антагониста рецептора интерлейкина 1(IL-1Ra), интерлейкина 4 (IL-4), интерлейкина 6 (IL-6), фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и интерферона альфа (INF- $\alpha$ ) в крови и во влаге передней камеры глаза (ПКГ) исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) на коммерческих наборах ООО «Цитокин» г.

Санкт-Петербурга и eBioscience (USA). В периферической крови определяли 2 системных иммуновоспалительных маркера СРБ (С-реактивный белок) и ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы). Определение концентрации С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови проводили с помощью ИФА на наборах СРБ-ИФА-Бест (ООО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) согласно прилагаемым инструкциям. Для определения ЦИК в сыворотке крови человека использовали турбодиметрический метод и набор реагентов «ЦИК-ХЕМА» (ООО «Хема-Медика», г. Москва), предназначенный для определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови человека.

У всех 33 пациентов проведено исследование на микрофлору (мазок с конъюнктивы) с помощью метода посева на кровяной агар, тиогликолевую среду, до назначения антибактериальной терапии.

Полученные данные обработаны с использованием программного обеспечения MS Win 8.1 / MS Office 2013 Pro Ru лицензия № 62013151 и IBM SPSS Statistics 22. Исследование было проведено на достаточном объеме наблюдений. В работе представлены статистически значимые результаты. Соответствие характера распределения количественных признаков закону нормального распределения исследовалось с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае несоответствия распределения признака закону нормального распределения для описания количественных данных использовали медиану ( $Me$ ) и интерквартильный размах (25-й ( $UQ$ ) и 75-й ( $LQ$ ) процентиля). Сравнение количественных показателей проводили с использованием критерия Манна Уитни. Для исследования зависимостей между переменными использовался коэффициент ранговой корреляции Kendall ( $\tau$ ).

Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. В случае превышения достигнутого уровня значимости ( $p$ ) статистического критерия этой величины принималась нулевая гипотеза.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

В результате полимеразно-цепной реакции (ПЦР) влаги передней камеры глаза (ПКГ) у пациентов с пресенильной катарактой не выявлено ДНК-маркеров герпетических вирусов (ВПГ и ЦМВ). Это означает отсутствие резидентных вирусов в активации воспалительных и дегенеративных процессов в ПКГ, в хрусталике и роговице глаза.

Микробиологические исследования со слизистой оболочки конъюнктивы глаз выявили сапрофитную (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) микрофлору, степень колонизации которой была диагностической ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ), а не патогенетической. Других патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не выявлено.

Данные иммуноферментного анализа (ИФА) концентраций цитокинов влаги ПКГ и периферической крови у пациентов с пресенильной катарактой представлены в таблице 1.

Таблица 1

Концентрации цитокинов в крови и во влаге передней камеры глаза (ПКГ) в пг/мл у пациентов с неосложненной пресенильной катарактой глаза

Цитокины	Me	25-й	75-й	p-level
IL-1b кровь (1)	6,90	3,26	11,30	P <sub>1-2</sub> = 0,0001
IL-1b влага ПКГ (2)	5,6	1,40	9,30	
IL 1 Ra кровь (3)	98,30	55,30	124,80	P <sub>3-4</sub> = 0,000009
IL 1 Ra влага ПКГ (4)	86,40	39,7	102,40	
IL-4 кровь (5)	2,50	1,48	3,51	P <sub>5-6</sub> = 0,0001
IL-4 влага ПКГ (6)	1,70	1,0	2,07	
IFN-a кровь (7)	1,30	0,90	2,13	P <sub>7-8</sub> = 0,000122
IFN-a влага ПКГ (8)	0,90	0,5	2,07	
TNF-a кровь (9)	0,80	0,39	1,50	P <sub>9-10</sub> = 0,001181
TNF-a влага ПКГ (10)	0,70	0,11	1,1	
IL-6 кровь (11)	0,70	0,60	1,02	P <sub>11-12</sub> = 0,0001
IL-6 влага ПКГ (12)	0,80	0,50	1,0	

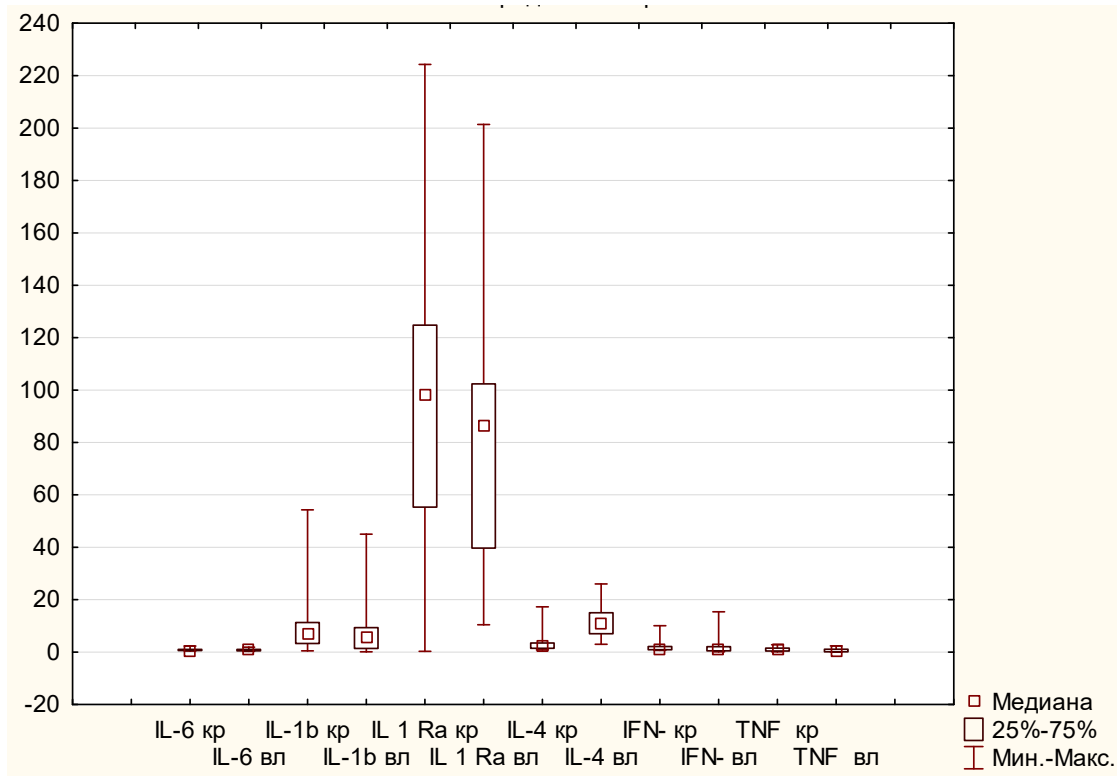


Диаграмма размаха показателей уровня цитокинов при неосложненной катаракте в крови и во влаге передней камеры глаза

Статистически значимых различий между концентрациями цитокинов в периферической крови и во влаге передней камеры глаза не выявлено. Как видно из данных диаграммы (рисунок), а также данных таблицы 1, наиболее выраженная концентрация была у IL-1Ra в периферической крови и во влаге передней камеры (96,53; LQ 55,3, UQ 124,80 пг/мл и 78,64; LQ 39,7 UQ 102,40 ( $p=0,067$ ) пг/мл соответственно), а также для IL-1b (10,4; LQ 3,26, UQ 11,30 пг/мл и 6,83; LQ 1,40, UQ 9,30 ( $p=0,05$ ) пг/мл соответственно) и IL-4 (3,27; LQ 1,48, UQ 3,51 пг/мл и 2,02; LQ 1,0, UQ 2,07( $p=0,05$ ) пг/мл соответственно). Минимальные концентрации в исследуемых биологических жидкостях были у INF-а, TNF-а и у IL-6. Статистически значимых различий между концентрациями цитокинов в периферической крови и во влаге передней камеры глаза не выявлено ( $p=0,05$ ).

Исследование корреляций между концентрациями цитокинов периферической крови и влаги передней камеры выявило положительную статистически значимую корреляционную связь для всех интерлейкинов (таблица 2).

Таблица 2

Зависимость между концентрациями интерлейкинов в периферической крови и во влаге ПКГ, пг/мл

	Valid, n	Kendall ( $\tau$ )	Z	p-level
IL-1b кр & IL-1b вл	33	0,784	6,622	менее 0,0001
IL 1 Ra кр & IL 1 Ra вл	33	0,612	5,171	менее 0,0001
IL-4 кр & IL-4 вл	33	0,804	6,792	менее 0,0001
IFN-альфа кр & IFN-альфа вл	33	0,477	4,033	менее 0,0001
TNF ФНО кр & TNF ФНО вл	33	0,479	4,051	менее 0,0001
IL-6 кр & IL-6 вл	33	0,697	5,890	менее 0,0001

кр – периферическая кровь, вл – влага ПКГ.

Получена статистически значимая высокая положительная корреляция между их концентрациями в периферической крови и во влаге передней камеры глаза, причем топические концентрации всегда были ниже системных. Следовательно, можно считать, что цитокины во влагу передней камеры глаза поступают преимущественно из периферической крови и самостоятельно синтезируются там в минимальном количестве эпителиальными и эндотелиальными клетками радужки и роговицы соответственно.

Следующим этапом проведен корреляционный анализ между клиническими особенностями пациентов с пресенильной катарактой и показателями общего анализа крови, молекулами системной гуморальной активности (СРБ, ЦИК) и уровнем обсемененности конъюнктивы глаза условно-патогенными микроорганизмами. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Анализ зависимости между клиническими характеристиками пациентов с пресенильной катарактой и показателями общего анализа периферической крови, молекул системной гуморальной активности и микробиотой слизистой оболочки конъюнктивы глаза

	Valid, n	Kendall ( $\tau$ )	Z	p-level
Пол & Лейкоциты, тыс/мкл	33	-0,300	-2,534	0,011
Пол & базофилы, %	33	0,362	3,060	0,002
Пол & СОЭ, мм/ч	33	0,232	1,957	0,050
Пол & <i>Staphylococcus epidermidis</i> в логарифмическом титре	33	0,320	2,706	0,007
Возраст & моноциты, %	33	-0,289	-2,444	0,015
Возраст & <i>Staphylococcus epidermidis</i> в логарифмическом титре	33	0,262	2,214	0,027

Пол пациента (1 – мужчины, 2 – женщины).

Как видно из таблицы, статистически значимая связь средней силы установлена как для возраста и пола пациентов, так и для показателей, отражающих локальные изменения в глазу.

Положительная корреляционная связь между полом и удельным весом базофильных лейкоцитов в периферической крови указывает на ассоциацию пресенильной катаракты с увеличением содержания базофилов в периферической крови с женским полом. Аналогичная взаимосвязь установлена между скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) в периферической крови и уровнем обсемененности конъюнктивы глаза *Staphylococcus epidermidis*. Значит, что женщины с пресенильной катарактой глаз имеют неблагоприятный анамнез по уровню обсемененности условно-патогенной микрофлорой слизистой оболочки глаз и системным воспалительным реакциям, отраженным в повышенном СОЭ и базофилии периферической крови. Повышенное СОЭ и увеличение содержания базофилов часто является маркерами иммуновоспалительных реакций, индуцированных как аутоантигенами (в том числе и опухолевыми), так и ксенобиотиками инфекционного и неинфекционного генеза [11].

Следовательно, существует потенциальная возможность развития иммунного воспаления у женщин после хирургического лечения пресенильной катаракты глаза.

Напротив, отрицательная корреляция с полом была получена для лейкоцитов периферической крови. То есть лейкоцитоз выявлен преимущественно у лиц мужского пола. Отдельно взятый лейкоцитоз может быть проявлением конституциональных особенностей мужчин.

Для возраста пациентов были получены положительная и отрицательная корреляции. Так, возраст пациентов положительно коррелировал с уровнем обсемененности конъюнктивы глаза *Staphylococcus epidermidis* (коэффициент корреляции и его значимость) и отрицательно - с удельным весом моноцитов в периферической крови (коэффициент корреляции и его значимость). То есть чем старше возраст пациентов, тем выше обсемененность конъюнктивы глаза представителями условно-патогенной микробиоты, и тем меньше в периферической крови моноцитов. Если принять во внимание факт трансформации моноцитов крови в макрофагальные клетки в тканях, участвующих в реакциях клеточного врожденного и адаптивного иммунитета, то эти данные можно расценивать как показатели формирования возрастной иммунной недостаточности и активации условно-патогенного кластера микробиоты биотопа слизистой оболочки конъюнктивы глаза.

Отрицательная корреляция получена для остроты зрения на неоперированном глазу с уровнем циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в периферической крови. Эта ассоциация указывает на то, что чем ниже острота зрения на неоперированном глазу, тем выше в периферической крови ЦИК. Уровень ЦИК в периферической крови отражает степень выраженности иммунных гуморальных реакций на ксено- и аутоантигены и эффективность их элиминаций врожденным клеточным иммунитетом. Неоднократно показано, что увеличение в периферической крови концентрации ЦИК ассоциировано с иммунокомплексными и аллергическими заболеваниями. Вполне вероятно, что у пациентов с пресенильной катарактой имеет место иммунокомплексный реактивный процесс, направленный на структуры второго «здорового» глаза. С этих позиций концентрация ЦИК в периферической крови у пациентов, готовящихся к хирургическому лечению пресенильной катаракты глаза, может быть критерием вовлекаемости в патологический процесс второго «здорового» глаза.

**Заключение.** На основании проведенного исследования можно предположить причинно-следственную взаимосвязь количественных и качественных показателей, которые свидетельствуют о существовании предикторов возникновения осложнений при хирургическом лечении пресенильной катаракты на оперированном глазу, а именно: женский пол, старший возраст (ближе к 55 лет), высокий уровень ЦИК в периферической крови.



## Список литературы

1. Еричев В.П., Петров С.Ю., Суббот А.М., Волжанин А.В., Германова В.Н., Карлова Е.В. Роль цитокинов в патогенезе глазных болезней // Национальный журнал глаукома. 2017. Т.16. № 1. С.85-99.
2. Galvis V., Sherwin T., Tello A., Merayo J., Barrera R., Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? Eye. 2015. vol. 29. no. 7. P.843-859. DOI:10.1038/eye.2015.63.
3. Керимов К.Т., Джафаров А.И., Гахраманов Ф.С. Ожоги глаз: патогенез и лечение. М.: Изд-во РАМН, 2005. 464 с.
4. Кочергин С.А., Чернакова Г.М., Клещева Е.А., Шаповал И.М., Мезенцева М.В. Некоторые аспекты офтальмоиммунологии // Цитокины и воспаление. 2012. Т. 11. № 1. С. 26-32.
5. Denniston A.K., Kottoor S.H., Khan I., Oswal K., Williams G.P., Abbott J., Wallace G.R., Salmon M., Rauz S., Murray P.I., Curnow S.J. Endogenous cortisol and TGF-beta in human aqueous humor contribute to ocular immune privilege by regulating dendritic cell function. J. Immunol. 2011. vol.186. no.1. P. 305-311.
6. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 280 с.
7. Ходжаев Н.С., Нерсесов Ю.Э., Захидов А.Б. Антипролиферативный эффект локальной цитокинотерапии в экспериментальной модели антиглаукоматозной операции // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием "Федоровские чтения - 2009": сб. науч. ст. (Москва, 01-03 июля 2009 г.). М., 2009. С. 225-226.
8. Офтальмология. Национальное руководство / под ред. Аветисова С.Э., Егорова Е.А., Мошетовой Л.К., Нероева В.В., Тахчиди Х.П. М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2018. 904 с.
9. Вит В.В. Развитие, строение и патология хрусталика // Катаракта. Киев, 2002. С. 24-54.
10. Агаева Т.С. Изучение мембраны тканей хрусталика при катаракте // Проллиферативный синдром в офтальмологии: материалы международной научно-практической конференции. М., 2006. С. 55-60.
11. Павленко В.И. Диагностика и лечение иммунодефицитных состояний. Благовещенск, 2017. 232 с.