

ЛОКАЛЬНАЯ И СИСТЕМНАЯ ПРОДУКЦИЯ 47 ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРОДВИНУТЫМИ СТАДИЯМИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Балацкая Н.В., Петров С.Ю., Котелин В.И., Куликова И.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва, e-mail: vikotelin@ya.ru

Цель исследования: проведение скрининга 47 цитокинов различного биологического действия в сыворотке крови (СК), в слезной и внутриглазной жидкостях (ВГЖ) пациентов с продвинутыми стадиями первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ). Обследованы 66 человек с ПОУГ (средний возраст $65,4 \pm 8,2$ года) на развитой (I группа) и далеко зашедшей (II группа) стадиях. В группу контроля вошли 25 относительно здоровых доноров (средний возраст $64,5 \pm 5,5$ года); группу сравнения с целью изучения интраокулярной продукции цитокинов (в ВГЖ) при глаукоме составили 7 пациентов с возрастной незрелой катарактой (средний возраст $71,3 \pm 3,7$ года). Содержание цитокинов в биоматериале определяли с помощью мультиплексного анализа на платформе xMAP (MAGPIX, «Luminex Corporation», США) в программе «xPONENT 3.1» («Luminex Corporation», США), наборами «Procarta Plex» («eBioscience», Австрия). Установлено, что продвинутые стадии глаукомы характеризуются изменениями системной продукции 10 медиаторов (IL-1RA, IL-18, RANTES/CCL5, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, SCF, VEGF-A, TGF- β 2) и в значительной степени сопровождаются локальными сдвигами большинства цитокинов, обладающих различными биологическими эффектами (IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF α , GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, GM-CSF, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, SCF, TGF- β 2). Комплексный анализ широкой панели цитокинов подтвердил связь заболевания с усилением местной продукции IL-6, TNF α , IL-8/CXCL8 и TGF- β 2 и позволил выделить ряд новых медиаторов – участников деструктивно-воспалительного процесса при ПОУГ: IL-1RA, IL-4, IL-7, SDF-1 α /CXCL12, Eotaxin/CCL11.

Изменения концентраций цитокинов в СК (IL-1RA, EGF) и ВГЖ (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-17A, IL-18, TNF α , IL-8/CXCL8, MIP-1 β /CCL4, EGF, LIF, TGF- β 2) пациентов достоверно отличаются при сравнении развитой и далеко зашедшей стадий ПОУГ, что указывает на важную роль данных медиаторов в патогенезе заболевания и на потенциальную возможность их использования в качестве биомаркеров прогрессирования глаукоматозного процесса.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, воспаление, деструкция, цитокины, хемокины, факторы роста, биомаркеры.

LOCAL AND SYSTEMIC PRODUCTION OF 47 CYTOKINES IN PATIENTS WITH ADVANCED STAGES OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Balatskaya N.V., Petrov S.Yu., Kotelin V.I., Kulikova I.G.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, e-mail: vikotelin@ya.ru

Purpose of the study: screening of 47 cytokines of various biological effects in the blood serum (BS), in the lacrimal and intraocular fluids (IOF) of patients with advanced stages of primary open-angle glaucoma (POAG). We examined 66 people with POAG (average age 65.4 ± 8.2 years) at advanced (group I) and advanced (group II) stages. The control group included 25 relatively healthy donors (mean age 64.5 ± 5.5 years); the comparison group with the aim of studying the intraocular production of cytokines (in the intraocular fluid) in glaucoma consisted of 7 patients with age-related immature cataract (mean age 71.3 ± 3.7 years). The content of cytokines in the biomaterial was determined using multiplex analysis on the xMAP platform (MAGPIX, Luminex Corporation, USA) using the xPONENT 3.1 software (Luminex Corporation, USA), with Procarta Plex kits (eBioscience, Austria). It was found that advanced stages of glaucoma are characterized by changes in the systemic production of 10 mediators (IL-1RA, IL-18, RANTES / CCL5, EGF, HGF / SF, LIF, PDGF-BB, SCF, VEGF-A, TGF- β 2) and a significant degrees are accompanied by local shifts of most cytokines with various biological effects (IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF α , GRO- α / CXCL1, IL-8 / CXCL8, IP-10 / CXCL10, MIP-1 β / CCL4, RANTES / CCL5, Eotaxin / CCL11, GM-CSF, EGF, HGF / SF, LIF, PDGF-BB, SCF, TGF- β 2). A comprehensive analysis of a wide panel of cytokines confirmed the relationship of the disease with an increase in local production of IL-6, TNF α , IL-8 / CXCL8 and TGF- β 2 and made it possible to identify a number of new mediators – participants in the destructive inflammatory process in POAG: IL-1RA, IL-4, IL-7, SDF-1 α / CXCL12, Eotaxin / CCL11. Changes in the concentrations of cytokines in BS (IL-1RA, EGF) and IOF (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-17A, IL-18, TNF α , IL-8 / CXCL8, MIP-1 β / CCL4, EGF, LIF, TGF- β 2) patients significantly differ when comparing the developed and advanced stages of POAG, which indicates the important role of these

mediators in the pathogenesis of the disease and the potential for their use as biomarkers of the progression of the glaucomatous process.

Keywords: primary open-angle glaucoma, inflammation; destruction, cytokines, chemokines, growth factors, biomarkers.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является ведущей причиной необратимой слепоты в развитых странах. Распространенность ПОУГ в мире составляет 3,5% среди населения в возрасте от 40 до 80 лет и имеет тенденцию к значительному увеличению [1]. В Российской Федерации рост заболеваемости глаукомой и ее лидирующее положение среди причин необратимой слепоты соответствуют общемировой тенденции. В России зафиксировано свыше 1 млн больных глаукомой, из которых более 150 тыс. являются инвалидами по зрению. Почти во всех регионах страны первичная инвалидность вследствие глаукомы занимает первое место среди всех офтальмопатологий [2].

Механизмы дегенеративно-дистрофического процесса, затрагивающего при глаукоме практически все оболочки глазного яблока, крайне сложны и во многом остаются нерасшифрованными. Особое место среди них отводится нарушениям в цитокиновом звене иммунорегуляции [3], которое в настоящее время активно изучается сразу в нескольких основных аспектах: повреждение решетчатой мембраны и склеры, снижение жизнеспособности и гибели ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) и их аксонов; поражение дренажного аппарата с нарушением оттока ВГЖ, избыточное рубцевание после антиглаукоматозных операций.

В доступной литературе представлено значительное количество публикаций, посвященных оценке локальной и системной продукции цитокинов при различных стадиях ПОУГ [4]. При этом большинство работ акцентированы на исследовании узкого спектра иммуномедиаторов, обладающих провоспалительной и фибротической активностью: цитокинов иммунного ответа, отдельных хемокинов, белков семейства трансформирующего фактора роста (TGF- β 1,2,3). Приводятся доказательства нарушений в локальной продукции цитокинов, свидетельствующих о местном воспалительном процессе при ПОУГ: так, в ВГЖ пациентов с глаукомой обнаружено значительное повышение уровней IL-6, CCL2/MCP-1 [5, 6], IL-8, MIP-1 β /CCL4 [7], TNF- α [8], а также IL-12, IL-17 [6].

Однако лишь ограниченное количество научных публикаций посвящено изучению больших панелей цитокинов во внутриглазной (ВГЖ) и слезной жидкостях (СЖ) и сопоставлению их содержания, немногочисленные работы касаются оценки локальной и системной продукции медиаторов [3].

Проведение целенаправленного комплексного исследования широкой линейки медиаторов различного биологического действия в крови и жидкостях глаза, в частности ВГЖ и СЖ, пациентов с ПОУГ представляется крайне актуальным, так как детальное понимание

молекулярных механизмов патогенеза заболевания будет способствовать совершенствованию способов диагностики и разработке новых стратегий лечения глаукомы.

Цель исследования: проведение скрининга 47 цитокинов различного биологического действия в сыворотке крови, в слёзной и внутриглазной жидкостях пациентов с продвинутыми стадиями ПОУГ.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 66 человек (66 глаз) с ПОУГ в развитой и далеко зашедшей стадиях. В I группу вошли 34 пациента (34 глаза) с ПОУГ развитой стадии. II группа включала 32 больных (32 глаза) с ПОУГ далеко зашедшей стадии. Средний возраст пациентов составил $65,4 \pm 8,2$ года (от 53 до 79 лет) и был сопоставим в группах: $63,2 \pm 7,8$ года (53–78 лет) в I группе и $67,7 \pm 8,2$ года (53–79 лет) во II группе.

В группу контроля вошли 25 относительно здоровых доноров (25 глаз, 51–76 лет, средний возраст $64,5 \pm 5,5$ года) без существенных поражений органа зрения (патологии сетчатки, глаукомы, травм и офтальмохирургических вмешательств). Допустимая сопутствующая офтальмопатология – начальная возрастная катаракта, миопия слабой степени. Соматическая патология была представлена преимущественно синдромом артериальной гипертензии, хронической ишемической болезнью сердца и межпозвонковым остеохондрозом. С целью исследования медиаторов в ВГЖ больных глаукомой была набрана группа сравнения, состоящая из 7 пациентов (7 глаз, 66–78 лет, средний возраст $71,3 \pm 3,7$ года), госпитализированных в Центр для плановой операции по поводу катаракты, соответствующая критериям включения и возрастной незрелой катарактой. Мы учли, что старение хрусталика могло повлиять на концентрацию исследуемых медиаторов [9]. Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по лечению пациентов с катарактой («Федеральные клинические рекомендации по оказанию офтальмологической помощи пациентам с возрастной катарактой». Экспертный совет по проблеме хирургического лечения катаракты. Москва. Издательство «ОФТАЛЬМОЛОГИЯ». 2020 г.), мы не имели возможности сформировать наиболее «здоровую» группу сравнения из пациентов с начальной возрастной катарактой для забора и исследования ВГЖ по причине наличия противопоказаний к проведению оперативного вмешательства больным с начальной возрастной катарактой. У исследуемых пациентов не ожидалось улучшения зрительных функций в результате проведения операции по поводу катаракты и отсутствовали другие медицинские показания для ее удаления (факогенная патология).

Всем больным проведено комплексное офтальмологическое обследование для постановки диагноза, включая визометрию, биомикроскопию, тонометрию, гониоскопию, компьютерную периметрию, офтальмоскопию.

Материалом иммунологического исследования служили образцы сыворотки крови (СК, n=91), слезной жидкости (СЖ, n=78) и внутриглазной жидкости (ВГЖ, n=32) пациентов основных групп, группы контроля и сравнения. Всего исследована 201 тест-проба.

Взятие СК и СЖ осуществляли до каких-либо манипуляций. Забор СЖ в объеме 25–50 мкл проводили с помощью стерильной градуированной пипетки из нижнего свода конъюнктивы в микропробирку типа Эппендорф. СК получали, используя стандартные методики.

Образцы ВГЖ были собирали во время операции по поводу глаукомы (в исследуемых группах больных), сенильной незрелой катаракты (для группы сравнения) путем аспирации из передней камеры глаза через парацентез роговицы с помощью инсулинового шприца, избегая контакта иглы с радужной оболочкой, хрусталиком и эндотелием роговицы.

Забор всех биологических жидкостей проводился с согласия пациента после детального разъяснения сути выполняемых процедур и целей исследования.

До проведения анализа материал хранился при температуре -70°C . С помощью мультиплексного анализа на платформе xMAP (MAGPIX, «Luminex Corporation», США) в программе «xPONENT 3.1» («Luminex Corporation», США), наборов «Procarta Plex» («Bioscience», Австрия) в пробах определяли концентрации 45 цитокинов различного биологического действия: интерлейкинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31), интерферонов (IFN- α , IFN γ), факторов некроза опухолей (TNF α , TNF- β), хемокинов (GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11), факторов роста (GM-CSF, NGF- β , BDNF, EGF, FGF-2, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, PlGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D). Исследования проводились согласно инструкции производителя с учетом минимальной и максимальной границ чувствительности метода.

Исследование содержания трансформирующих факторов роста TGF- β 1 и TGF- β 2 в биоматериале выполняли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) наборами Invitrogen («Thermo Fisher Scientific, Austria»). Результаты реакции учитывали на мультифункциональном спектрофотометре Cytation 5 («Biotek») при длине волны 450 нм.

Статистический анализ результатов проведен при помощи электронных таблиц Microsoft Office Excel 2010 и пакета прикладных программ «Statistica» v. 13.0 Stat Soft Inc. (США) и SPSS 22 (IBM). Для нормально распределенных выборок были представлены среднее (M) и стандартная ошибка среднего (m). Согласованность распределения с нормальным определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка (W). Для сравнения нормально распределенных независимых выборок использовали t-критерий Стьюдента. Различия

считались значимыми в случае, если уровень значимости для соответствующих критериев составлял $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В образцах СК доноров контрольной группы определен 21 цитокин из 47 исследуемых. В 64–100% случаев обнаружены IL-1RA, IL-7, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, BDNF, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. Реже, в 28–44% тест-проб, встречались TNF α , IL-8, MIP-1 α (табл. 1).

В СЖ здоровых людей выявлены 23 медиатора, из которых в подавляющем большинстве образцов (56–100%) были обнаружены IL-1 β , IL-1RA, IL-7, GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1 β /CCL4, Eotaxin/CCL11, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. Менее чем в половине случаев (20–44%) определялись IL-2, IL-15, IL-17A, SDF-1 α , RANTES, GM-CSF (табл. 2).

В образцах ВГЖ группы сравнения определялись только 11 цитокинов. Высокая частота выявления в ВГЖ (86–100%) была характерна для IL-7, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, Eotaxin/CCL11, HGF/SF, SCF, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. В трети случаев (29%) определялся FGF-2 (табл. 3). Остальные медиаторы были идентифицированы в незначительном количестве проб или концентрация этих веществ была ниже порога минимальной чувствительности тест-системы.

В СК пациентов I группы (со II стадией ПОУГ) были обнаружены 19 медиаторов из 47 исследуемых. С максимальной частотой (в 100% случаев) определялись следующие цитокины: IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, BDNF, HGF/SF, PDGF-BB, PIGF-1, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. В 35-91% проб выявлены IL-7, IL-18, MCP-1/CCL2, EGF, LIF, SCF. Несколько реже, у 18% пациентов, в СК определялся TNF- α (табл. 1).

Анализ уровней системной продукции цитокинов показал достоверное увеличение концентрации содержания IL-18, SCF, VEGF-A и снижение содержания RANTES/CCL5, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, TGF- β 2 в СК относительно таковых в группе контроля ($p < 0,05$).

В СЖ больных с развитой стадией ПОУГ (I группа) были выявлены 26 цитокинов из 47 исследуемых. Чаще, в 67–100% тест-проб, определялись IL-7, GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. В 26–50% случаев обнаруживались IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-15, IL-17A, TNF- α , GM-CSF, PIGF-1, SCF (табл. 2).

В данной группе отмечены достоверные изменения показателей локальной продукции цитокинов относительно значений нормы: увеличение содержания IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-15,

TNF- α , MIP-1 β /CCL4, EGF, SCF, TGF- β 2 и снижение концентрации PDGF-BB в СЖ пациентов ($p < 0,05$). Также отмечалась тенденция к усилению секреции IL-1RA в СЖ по сравнению с таковой в контроле ($p = 0,06$).

Необходимо отметить, что такие цитокины, как IL-2, SDF-1 α /CXCL12 и RANTES/CCL5, статистически значимо чаще встречались в СЖ пациентов, чем в группе здоровых обследуемых ($p < 0,05$).

В образцах ВГЖ больных I группы (развитая ПОУГ) выявлены 18 медиаторов из 47 исследуемых. В 100% проб определены: IL-7, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, Eotaxin/CCL11, HGF/SF, SCF, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. В 33% случаев определены IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-13, GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, EGF, FGF-2 (табл. 3).

Анализ содержания цитокинов в ВГЖ пациентов с ПОУГ в развитой стадии (I группа) показал статистически значимое повышение концентраций IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-7, IL-13, GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, Eotaxin/CCL11, EGF, HGF/SF, TGF- β 2 по сравнению с группой сравнения ($p < 0,05$).

В СК больных II группы (III стадия ПОУГ) из 47 исследуемых цитокинов определен 21. Практически у всех пациентов (94–100%) в системном кровотоке выявлены IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, BDNF, HGF/SF, PDGF-BB, PlGF-1, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. В 43–78% проб СК найдены IL-7, IL-18, EGF, LIF, SCF. Относительно редко, в 13–38% случаев, обнаружены IL-1RA, TNF- α , MIP-1 α /CCL3 (табл. 1).

При проведении оценки системной продукции медиаторов в этой группе установлено статистически значимое ее повышение для IL-18, SCF, VEGF-A и снижение для RANTES/CCL5, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, TGF- β 2 относительно показателей группы сравнения ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ содержания медиаторов в СК пациентов исследуемых групп показал достоверное повышение сывороточных уровней IL-1RA, EGF и MIP-1 α /CCL3 при далеко зашедшей стадии ПОУГ (во II группе) ($p < 0,05$). Необходимо отметить, что уровень системной продукции TGF- β 1 во II группе, несмотря на отсутствие статистически значимых различий с нормой, был достоверно выше, чем в I группе.

В СЖ пациентов с далеко зашедшей стадией глаукомы определены 26 цитокинов из 47 исследуемых. IL-7, GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2 выявлялись наиболее часто, в 73–100% случаев. В 33–54% тест-проб обнаружены IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-15, IL-17A, TNF- α , GM-CSF, PlGF-1, SCF (табл. 2).

В этой же группе больных определены статистически значимые изменения содержания медиаторов в СЖ по сравнению с контролем ($p < 0,05$): так, увеличение концентраций отмечено для 13 цитокинов (IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-7, IL-15, TNF- α , IL-8/CXCL8, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, EGF, SCF, TGF- β 2), снижение уровня – для PDGF-BB.

Отмечена тенденция к повышению концентраций SDF-1 α /CXCL12, GM-CSF и HGF/SF относительно таковых группы здоровых ($p = 0,06$). Кроме того, цитокины IL-2, SDF-1 α /CXCL12, RANTES/CCL5 выявлялись в пробах СЖ больных с далеко зашедшей стадией глаукомы достоверно чаще (в 2–2,5 раза) по сравнению с I контрольной группой ($p < 0,05$).

Важно отметить, что статистически достоверных различий между содержанием цитокинов в СЖ у больных I и II групп выявлено не было.

В ВГЖ пациентов II группы из всей панели изучаемых медиаторов определялись 28.

В 44–100% образцов выявлены IL-7, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1 α /CXCL12, MCP-1/CCL2, Eotaxin/CCL11, FGF-2, HGF/SF, SCF, VEGF-A, TGF- β 1, TGF- β 2. Реже, в 13–31% случаев, обнаруживались IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF- α , GRO- α /CXCL1, MIP-1 β /CCL4, GM-CSF, EGF, LIF, PDGF-BB (табл. 3).

При исследовании внутриглазной продукции цитокинов при далеко зашедшей стадии ПОУГ (во II группе) достоверное ее усиление относительно нормы зафиксировано для IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF- α , GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MIP-1 β /CCL4, Eotaxin/CCL11, GM-CSF, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, TGF- β 2 ($p < 0,05$).

Также выявлены статистически значимые различия между изучаемыми показателями в I и II группах. Так, концентрации IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF- α , MIP-1 β /CCL4, GM-CSF, EGF, LIF, PDGF-BB и TGF- β 2 в ВГЖ у пациентов с далеко зашедшей стадией ПОУГ были достоверно выше, и, напротив, интраокулярное содержание IL-13, MCP-1/CCL2 значимо снижено по сравнению с таковыми при развитой стадии заболевания ($p < 0,05$).

Таблица 1

Концентрация цитокинов в СК (пг/мл) пациентов с продвинутыми стадиями ПОУГ

Аналиты	I группа (n=34)		II группа (n=32)		Контрольная группа (n=25)	
	Частота выявления (%)	M \pm m	Частота выявления (%)	M \pm m	Частота выявления (%)	M \pm m
IL-1RA	—	—	38**	690,3 \pm 152,98	64	417,4 \pm 102,9
IL-7	62	2,97 \pm 0,4	72	3,9 \pm 0,6	92	4,1 \pm 0,8
IL-18	53	37,9 \pm 0,95 \uparrow *	43	46,4 \pm 8,2 \uparrow *	44	23,7 \pm 5,1
TNF- α	18	16 \pm 2,4	13	10,4 \pm 5,2	28	13 \pm 1,4
IP-10/CXCL10	100	18,9 \pm 1,8	100	20,7 \pm 3,4	92	20,9 \pm 2,8
SDF-1 α /CXCL12	100	702,4 \pm 100,6	100	630,2 \pm 136,4	92	478,9 \pm 50,3

MCP-1/CCL2	82	50,6±4,3	97	50,4±9,3	92	49,8±8,3
MIP-1α/CCL3	—	—	25	8,8±2,48	28	9,8±3,5
MIP-1β/CCL4	100	72,3±8,2	100	85,3±14,2	72	75,4±5,8
RANTES/CCL5	100	14,7±0,7↓*	100	13,8±1,1↓*	92	31,9±7,4
Eotaxin/CCL11	100	79,5±7,5	100	63,1±8,9	96	63,1±10,6
BDNF	100	180,5±25,5	94	262,5±64,7	88	233,5±37,3
EGF	35**	3,7±0,7↓*	75	28±7,5↓*8	72	43,05± 9,6
HGF/SF	100	118,7±13,8↓*	100	158±17,1↓*	92	179,3±16,97
LIF	44	6,5±0,7↓*	66	6,1±0,7↓*	64	11,4±3,5
PDGF-BB	100	58,9±5,0↓*	100	56,7± 6,2↓*	96	111,02±15,9
PIGF-1	100	40,7±9	94	31,3±6,5	80	27,7±3,1
SCF	91	12,5±1,8↑*	78	9,4±1,4↑*	84	6,9±1,0
VEGF-A	100	551,6±90,1↑*	100	512,5±106↑*	80	246,5±34,9
TGF-β1	100	7846,7±1339,9	100	11740,1±2093,38	100	12897,7±1850,7
TGF-β2	100	1006,1±158,2↓*	100	1032,98±167,1↓*	100	3535,2±1030,6

Примечание: * – различие между показателями пациентов с ПОУГ и группой контроля (p<0,05); ↑↓ – повышение или понижение параметра (n – число человек в группе); δ – различие между значениями в группах пациентов со II и III стадиями ПОУГ (p<0,05); ** – различие частоты встречаемости показателей у пациентов с ПОУГ относительно контрольной группы (p<0,05)

Таблица 2

Концентрация цитокинов в СЖ пациентов с продвинутыми стадиями ПОУГ (пг/мл)

Аналиты	I группа (n=27)		II группа (n=26)		Контрольная группа (n=25)	
	Частота выявления (%)	M±m	Частота выявления (%)	M±m	Частота выявления (%)	M±m
IL-1β	48	7,6±0,74↑*	50	14,9±6,6↑*	56	4,6±0,49
IL-1RA	50	4337,9±1092,6#	54	4064,3±812,2↑*	68	992,2±404,2
IL-2	48**	67,8±11,1↑*	46**	80,8±11,7↑*	20	11,4±1,1
IL-6	41	77,2±12,5↑*	46	114,8±37,8↑*	—	—
IL-7	93	40,9±9,2	88	89,6±33,2↑*	88	16,5±9,5
IL-15	26	10,7±0,8↑*	35	16,7±4,6↑*	44	4,6±0,2
IL-17A	33	10,7±1,7	38	24,7±10,5	20	3,8±0,5
TNF-α	41	33,1±4,3↑*	44	48,4±12,9↑*	—	—
GRO-α/CXCL1	89	31,7±3,6	85	33,6±5,1	88	34,0±6,6
IL-8/CXCL8	89	101,9±21,6	88	167,9±40,5↑*	56	52,1±39,3
IP-10/CXCL10	96	94,2±23,3	100	81,9±25,9	100	96,9±45,9
SDF-1α/CXCL12	70**	467,9±88,7	73**	567,8±87,7#	32	165,0±59,2
MCP-1/CCL2	89	99,6±44,3	88	109,3±56,6	88	40,6±17,4
MIP-1β/CCL4	89	54,7±5,5↑*	85	67,2±6,6↑*	88	30,9±4,8
RANTES/CCL5	67**	6,6±1,7	73**	9,4±1,7↑*	20	3,6±0,7
Eotaxin/CCL11	96	5,8±0,9	92	8,4±1,7	89	6,8±0,6
GM-CSF	30	45,3±3,4	33	89,1±38,8#	44	33,1±4,8
EGF	96	150,9±22,04↑*	96	214,4±29,8↑*	100	38±10,3
HGF/SF	93	176,1±58,1	92	477,7±211,9#	100	74,4±31,7
LIF	70	12,4±1,9	77	23,0±9,8	68	14,04±3,03

PDGF-BB	89	17,5±2,5↓*	96	16,5±1,7↓*	100	53,9±9,8
PIGF-1	37	12,8±2,7	46	13,1±2,6	56	8,9±1,5
SCF	37	2,98±0,4↑*	37	5,97±2,4↑*	—	—
VEGF-A	93	389,8±95,3	96	403,8±175,4	100	202,0±89,6
TGF-β1	100	1136,9±72,4	100	1144,3±54,8	100	1296,6±71,3
TGF-β2	93	23476,1±1840,3↑*	100	21450,0±2172,7↑*	100	12214,3±2320,6

Примечание: * – различие между показателями пациентов с ПОУГ и группой контроля (p<0,05); ↑↓ – повышение или понижение параметра (n – число человек в группе); ** – различие частоты встречаемости показателей у пациентов с ПОУГ относительно контрольной группы (p<0,05); # – тенденция к увеличению показателя у пациентов с ПОУГ в сравнении с группой контроля (p=0,06)

Таблица 3

Концентрация цитокинов в ВГЖ пациентов с продвинутыми стадиями ПОУГ (пг/мл)

Аналиты	I группа (n=9)		II группа (n=16)		Группа сравнения (n=7)	
	Частота выявления (%)	M±m	Частота выявления (%)	M±m	Частота выявления (%)	M±m
IL-1β	—	—	13	5,9±1,5↑*	—	—
IL-1RA	33	1476,5±220,1↑*	31	1129,6±350,4↑*	—	—
IL-2	33	18,6±2,5↑*	19	56,6±22,7↑*§	—	—
IL-4	—	—	13	32,9±11,7↑*§	—	—
IL-6	33	37,0±10,8↑*	25	44,3±18,1↑*	—	—
IL-7	100	6,1±1,5↑*	100	7,3±2,2↑*	100	2,3±0,3
IL-13	33	4,0±0,3↑*§	—	—	—	—
IL-15	—	—	13	8,56±3,2↑*§	—	—
IL-17A	—	—	13	10,0±4,7↑*§	—	—
IL-18	—	—	13	94,4±4,2↑*§	—	—
IL-27	—	—	13	166,0±63,3↑*§	—	—
TNF-α	—	—	13	36,6±6,5↑*§	—	—
GRO-α/CXCL1	33	8,7±0,5↑*	31	11,9±6,0↑*	—	—
IL-8/CXCL8	33	8,5±0,9↑*	50	18,4±5,9↑*	—	—
IP-10/CXCL10	100	129,7±31,4↑*	100	104,8±50,9↑*	100	25,45±10,7
SDF-1α/CXCL12	100	754,1±93,3	100	855,4±202,0	86	567,6±145,5
MCP-1/CCL2	100	1350,5±153,4§	100	902,4±144,7	100	1221,1±315,0
MIP-1β/CCL4	—	—	31	28,6±8,1↑*§	—	—
Eotaxin/CCL11	100	6,1±0,4↑*	100	6,3±1,2↑*	100	2,5±0,6
GM-CSF	—	—	13	44,8±9,4↑*§	—	—
EGF	33	3,5±0,1↑*	19	34,8±18,1↑*§	—	—
FGF-2	33	10,6±1,3	44	22,6±10,3	29	7,4±3,6
HGF/SF	100	1093,3±114,9↑*	100	1096,4±158,3↑*	100	605,3±77,1
LIF	—	—	25	11,3±5,1↑*§	—	—

PDGF-BB	—	—	19	15,7±3,9↑*§	—	—
SCF	100	3,2±0,3	100	4,7±0,7	100	3,1±0,4
VEGF-A	100	372,6±65,2	100	490,1±110,8	100	324,1±75,6
TGF-β1	100	895,2±121,2	100	873,1±101,5	100	617,7±91,1
TGF-β2	100	1901,5±302,9↑*	100	4683,0±1272,0↑*§	100	1605,2±126,9

Примечание: * – различие между показателями пациентов с ПОУГ и группой сравнения ($p < 0,05$); ↑↓ – повышение или понижение параметра (n – число человек в группе); § – различие между значениями в группах пациентов со II и III стадиями ПОУГ ($p < 0,05$)

Несмотря на большое количество исследований цитокинов при глаукоме, до сих пор не была проведена комплексная оценка широкой панели этих факторов при глаукоме. В данной работе проведен скрининг содержания 47 цитокинов различного биологического действия в крови, слезной и внутриглазной жидкостях пациентов при развитой и далеко зашедшей стадиях заболевания, выявлены особенности локальной и системной продукции медиаторов, характерные для продвинутой ПОУГ.

Интерлейкины

IL-1β – провоспалительный индуцибельный цитокин с широким спектром действия, одним из первых при воздействии неблагоприятных факторов включается в ответную защитную реакцию организма, регулируя неспецифический и специфический иммунный ответ. В целом ряде публикаций представлены доказательства его участия в патогенезе ПОУГ. Так, показано, что усиление локальной продукции IL-1β может играть важную роль в дегенерации нейронов, увеличивая экспрессию MMP9 в сетчатке [10].

В нашей работе у половины пациентов с ПОУГ было выявлено значимое увеличение концентрации IL-1β в СЖ по сравнению с нормой. Следует отметить, что данный медиатор выявлялся в ВГЖ только у пациентов с глаукомой на далеко зашедшей стадии.

Похожие данные были получены Л.Ю. Барычевой и иными, Н.М. Агарковым и иными, Л.П. Чередниченко и иными, показавшими значимый рост уровня IL-1β в СЖ больных с развитой стадией ПОУГ относительно здоровых лиц [11, 12, 13].

Однако при исследовании СК пациентов с ПОУГ, в отличие от работ Л.П. Чередниченко и соавт. [13], О.С. Слеповой и соавт. [14], показавших повышение системной продукции IL-1β как при начальных, так и при продвинутых стадиях ПОУГ, этот цитокин не был выявлен нами ни в одной из тест-проб.

Интересные данные были получены при исследовании рецепторного антагониста IL1-RA – ингибитора и важнейшего физиологического регулятора экспрессии IL-1β. Нами не было обнаружено системной продукции рецепторного антагониста при развитой ПОУГ; во II группе сывороточный IL1-RA определен в 38% случаев в концентрациях, превышающих таковые в

контроле. Данное обстоятельство позволяет думать о нарушении регуляции воспалительных механизмов на уровне всего организма на далеко зашедших стадиях глаукомы.

Достоверное значительное увеличение содержания IL-1-RA относительно нормы определено в СЖ пациентов, аналогичные сдвиги этого медиатора наблюдались и в ВГЖ. В целом результаты нашего исследования по IL-1-RA согласуются с данными Э.В. Егоровой и соавт., показавших повышение его концентрации в СЖ у пациентов с I и II стадиями ПОУГ по отношению к контролю [15].

IL-2 играет важную роль в реализации механизмов адаптивного иммунного ответа и продуцируется Т-хелперами 1-го типа (Th 1). Нами зафиксировано достоверное увеличение его содержания в СЖ и ВГЖ у больных ПОУГ относительно групп контроля и сравнения соответственно. Однако на системном уровне, в СК, этот цитокин не определялся. Необходимо отметить, что IL-2 статистически значимо в более высоких концентрациях и в 2 раза чаще встречался в тест-пробах СЖ пациентов основных групп, чем в контроле; концентрация медиатора в ВГЖ пациентов I группы была достоверно выше таковой во II группе. Подобные результаты были получены I. Chono et al. и Н.М. Агарковым и соавт. [12, 16].

IL-4 интраокулярно секретируется базофилами, а также Т-хелперами 2-го типа (Th 2). Медиатор индуцирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, снижает секрецию IL-1 β , TNF- α , IL-6, регулирует цитотоксическую активность и миграцию макрофагов, стимулирует секрецию колониестимулирующих факторов (CSF).

Рядом авторов продемонстрировано участие этого цитокина в процессах фиброобразования, характерных, в том числе, и для ПОУГ [6].

IL-4 выявлен нами только в тест-пробах ВГЖ пациентов с далеко зашедшей стадией ПОУГ, что было сопоставимо с результатами I. Chono et al., показавшими, что уровень содержания IL-4 был значительно выше в ВГЖ у больных с ПОУГ, чем у здоровых лиц [6, 16].

IL-6 в глазу человека секретируется базофилами, макрофагами, эпителием роговицы и конъюнктивы, стромой роговицы, сосудистым эндотелием, Th2-клетками. Цитокин регулирует уровень воспаления, секреторную активность плазматических клеток, ингибирует синтез IL-1 β и TNF- α .

В литературе имеются доказательства участия IL-6 в патогенезе глаукомы: повышенные уровни его локальной продукции (в СЖ и ВГЖ) зафиксированы на продвинутых стадиях заболевания [17], в ряде исследований показано увеличение содержания цитокина в крови пациентов с начальной ПОУГ [14].

Нами не обнаружен IL-6 в биоматериале здоровых доноров, но определен в 41–46% образцов СЖ и в 25–33% случаев в ВГЖ основных групп, что позволяет думать о наличии локальной воспалительной реакции у пациентов с продвинутыми стадиями ПОУГ.

Также в качестве потенциального участника патогенеза глаукомы обсуждается роль IL-7 – цитокина, стимулирующего гемопоэз.

IL-7 продуцируется фибробластами и стромальными костномозговыми клетками, обладает лимфангиогенной активностью [18], что представляет большой интерес, учитывая последние сообщения в литературе о наличии в глазу лимфатической системы и ее роли в патогенезе ПОУГ.

В нашем исследовании выявлено достоверное увеличение концентрации IL-7 в ВГЖ больных обеих исследуемых групп относительно группы сравнения, а также установлено значимое повышение концентрации медиатора в СЖ пациентов на далеко зашедшей стадии относительно группы контроля, что согласуется с данными Н.М. Агаркова и соавт., В.В. Черных и соавт. [6, 12].

Данный цитокин был обнаружен нами в 100% проб ВГЖ пациентов в концентрациях, значительно превышающих таковые в СК; это свидетельствует о его интраокулярной продукции и участии в патогенезе ПОУГ.

В большом количестве научных публикаций представлены подтверждения ключевой роли семейства цитокинов IL-17A в воспалительных или аутоиммунных, нейродегенеративных заболеваниях, таких как псориаз, ревматоидный артрит, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и глаукома. Полагают, что IL-17A инициирует заболевания, активируя глиальные клетки [19].

В нашей работе IL-17A не был выявлен в системном кровотоке ни в норме, ни в патологии; определялся приблизительно в трети проб СЖ больных (где его уровни были существенно выше, чем в контроле) и обнаружен в ВГЖ только у 13% пациентов с далеко зашедшей ПОУГ.

Полученные нами результаты согласовывались с данными Н.М. Агаркова и иных, В.В. Черных и иных, Л.Ю. Барычевой и иных [11, 12, 17].

Синтезируемый преимущественно макрофагами и некоторыми другими клетками организма IL-18 является провоспалительным медиатором, ключевым регулятором врожденного и адаптивного иммунного ответа, принадлежащим к семейству IL-1 цитокина. Экспериментально доказано, что экспрессия IL-18 увеличивается с возрастом в сетчатке и зрительном нерве мышей. Интравитреальная инъекция PEDF у мышей снижает потерю ГКС и слоя нервных волокон, замедляет распад зрительных функций и снижает экспрессию IL-18 в сетчатке и зрительном нерве [20].

По данным Н.М. Агаркова и соавт., концентрация IL-18 в СЖ у пациентов с развитой стадией глаукомы достоверно выше таковой у здоровых лиц [12].

В нашем исследовании данный медиатор в СЖ больных основных групп и в контроле не был обнаружен, однако определялся в 13% проб ВГЖ пациентов с далеко зашедшей ПОУГ в концентрации, значительно превышающей таковую в СК, что позволяло сделать заключение о его активной внутриглазной продукции. Уровень системной продукции IL-18 на продвинутых стадиях заболевания был достоверно выше, чем в норме.

Факторы некроза опухоли

Известно, что TNF- α обладает провоспалительной активностью, в глазу человека продуцируется макрофагами, Т- и В-клетками, эндотелием роговицы и конъюнктивы, трабекулярной сетью и базофилами. Получены многочисленные экспериментальные доказательства участия этого цитокина в патогенезе ПОУГ.

TNF- α определялся нами почти в половине исследуемых тест-проб СЖ пациентов обеих групп и только в ВГЖ 13% больных с далеко зашедшей глаукомой, однако в СЖ группы здоровых и ВГЖ группы сравнения данный медиатор обнаружен не был. Похожие результаты были представлены в работе Л.Ю. Барычевой и соавт. [11]. Также S. Balaiya et al. и N. Khalef et al. при исследовании ВГЖ у пациентов с ПОУГ было отмечено значимое повышение уровня TNF- α по сравнению с контролем (пациенты с сенильной катарактой) [21, 22].

В СК TNF- α выявлялся примерно с равной частотой и в сопоставимых концентрациях с таковыми контрольной группы, что согласуется с данными О.С. Слеповой и соавт. [14]. Таким образом, наши результаты свидетельствуют о локальной продукции TNF- α и являются подтверждением участия этого цитокина в патогенезе ПОУГ.

Хемоаттрактантные медиаторы

Роль хемокинов в развитии и прогрессировании глаукомы в настоящее время является предметом активных обсуждений.

IL-8/CXCL8 – провоспалительный хемокин, индуцирует хемотаксис и опосредует инфильтрацию нейтрофилов. Исследования *in vitro* показывают, что IL-8/CXCL8 негативно воздействует на ГКС посредством усиления экспрессии апоптотических генов [23]. Кроме того, известно, что хемокин вызывает патологическую активацию стенки эндотелия сосудов, способствуя повышению проницаемости гематоофтальмического барьера.

Так, В.В. Черных и соавт. выявлено значимое увеличение содержания IL-8/CXCL8 в СЖ и ВГЖ больных с развитой стадией ПОУГ относительно контроля [17].

В нашей работе в подавляющем числе тест-проб в СЖ содержание этого цитокина было повышено у больных обеих исследуемых групп, однако эти изменения были статистически значимы только во II группе. При исследовании ВГЖ IL-8/CXCL8 обнаружен

только в тест-пробах пациентов с глаукомой, при этом данный медиатор выявлялся значительно чаще в группе с далеко зашедшей ПОУГ и в концентрациях, существенно превышающих таковые у больных с развитой стадией заболевания. Полученные нами результаты согласуются с данными Y. Takai et al., N. Khalef et al., T. Kokubun et al. [7, 22, 24], а также Z.S. Ulhaq, определивших значимое увеличение содержания IL-8/CXCL8 в ВГЖ у пациентов с ПОУГ по сравнению с группой контроля [25].

SDF-1 α /CXCL12 – фактор, происходящий из стромальных клеток, в норме является гомеостатическим хемоаттрактантом, регламентирующим миграцию и хоминг лимфоцитов и моноцитов/гемопоэтических клеток в организме.

Единственным специфическим рецептором для данного цитокина является CXCR4, широко экспрессируемый в различных органах, в том числе и тканях глаза: их взаимодействие (SDF-1 α и CXCR4) играет ключевую роль в процессах репарации при ишемическом поражении миокарда, нервов, печени и почек. Значительное увеличение экспрессии SDF-1 α и его рецептора было обнаружено в сетчатке при компрессионном повреждении зрительного нерва в эксперименте на крысах, а также продемонстрированы антиапоптотические эффекты цитокина в отношении клеток сосудистого эндотелия при ишемически-реперфузионной травме [26, 27].

Нами впервые проведено исследование данного медиатора в рамках изучения цитокинового профиля при продвинутых стадиях ПОУГ. SDF-1 α /CXCL12 определялся в 92–100% проб СК пациентов и здоровых доноров, при этом уровень его системной продукции при ПОУГ был значительно выше, чем в контроле.

SDF-1 α достоверно чаще (в 70–73% случаев) и в более высоких концентрациях выявлялся в СЖ пациентов по отношению к группе контроля; также отмечена тенденция к увеличению его содержания в СЖ больных с далеко зашедшей стадией ПОУГ.

Цитокин обнаружен нами во всех пробах ВГЖ пациентов, а его уровень был существенно выше такового группы сравнения.

Такое усиление локальной продукции SDF-1 α , вероятно, является компенсаторным ответом, направленным на репарацию, при этом, учитывая его мощные хемоаттрактантные свойства, нельзя исключить, что повышение концентраций медиатора может привести к активной миграции и интраокулярному рекрутингу лейкоцитов и, как следствие, к усилению деструктивного процесса на продвинутых стадиях заболевания. Однако данное предположение нуждается в дальнейших целенаправленных исследованиях.

MCP-1/CCL2 участвует в активации и привлечении моноцитарных клеток к месту повреждения. Показано, что MCP-1/CCL2 способен как осуществлять нейропротекцию, так и оказывать нейродеструктивное воздействие на ГКС в эксперименте [28].

В нашем исследовании этот медиатор выявлялся в подавляющем большинстве проб на системном и локальном уровнях пациентов основных групп, контрольной группы и группы сравнения. Уровни системной продукции MCP-1/CCL2 при ПОУГ не отличались от таковых в контроле.

Напротив, в СЖ пациентов I и II групп концентрации MCP-1/CCL2 были повышены, однако при сравнительном анализе не было установлено статистически значимой разницы с контролем. Аналогичные результаты были получены при исследовании содержания этого цитокина в ВГЖ.

MIP-1 β /CCL4 является гомеостатическим хемоаттрактантом, контролирует миграцию преимущественно естественных киллеров и моноцитов. В нашем исследовании уровень MIP-1 β /CCL4 в СК у больных глаукомой был сопоставим с таковым в группе контроля.

Содержание MIP-1 β /CCL4 в СЖ в обеих исследуемых группах было достоверно увеличено в сравнении с контролем (частота выявляемости превышала 85%). В ВГЖ группы сравнения данный медиатор не обнаруживался, однако был определен нами в трети тест-проб пациентов с ПОУГ на далеко зашедших стадиях, что согласовывалось с данными работы T. Kokubun et al., также наблюдавших увеличение интраокулярной продукции MIP-1 β /CCL4 при ПОУГ по отношению к контрольной группе [7].

Роль RANTES/CCL5, хемокина, играющего активную роль в привлечении преимущественно лимфоцитов в очаг воспаления, так же как SDF-1 α , наименее изучена в аспекте патогенеза глаукомы – в литературе найдены единичные публикации, посвященные этой проблеме.

Так, В. Burgos-Blasco et al. не было обнаружено значимых отличий в локальной продукции RANTES/CCL5 (как в СЖ, так и в ВГЖ) при ПОУГ по сравнению с контролем [4], однако нами выявлены достоверные разнонаправленные сдвиги в содержании этого цитокина в СК, СЖ и ВГЖ пациентов.

В нашем исследовании содержание RANTES/CCL5 в СК всех больных было значительно снижено относительно контроля.

Статистически значимо чаще и в более высоких концентрациях RANTES/CCL5 выявлялся в СЖ пациентов по отношению к группе контроля; также отмечен достоверный рост его уровня в СЖ больных с ПОУГ на далеко зашедшей стадии.

Eotaxin/CCL11 относится к CC классу хемокинов, в глазу секретуруется тучными клетками. Накоплены данные, свидетельствующие о профибротических эффектах этого медиатора при ряде патологий [29–31], однако в аспекте развития ПОУГ, особенно продвинутых стадий заболевания, Eotaxin остается малоизученным.

Так, В. Burgos-Blasco et al. было установлено, что у больных ПОУГ в СЖ и ВГЖ содержание Eotaxin/CCL11 значимо не отличалось от контроля [4].

Нами Eotaxin/CCL11 выявлен практически в 96–100% проб всех исследуемых биологических жидкостей, его концентрации в СК и СЖ пациентов как основных групп, так и группы контроля были сопоставимы, что частично согласовывалось с данными В. Burgos-Blasco et al. [4], однако его содержание в ВГЖ больных с глаукомой было статистически значимо выше, чем в группе сравнения.

Факторы роста

GM-CSF относится к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов. Стимулирует рост и развитие гематопозитических клеток таких линий, как: гранулоциты, макрофаги, эозинофилы, а в комбинации с эритропоэтином участвует в дифференцировке эритроцитов. В ответ на медиаторы воспаления (IL-1, IL-6, TNF- α или LPS) GM-CSF продуцируется множеством различных типов клеток. Экспрессия GM-CSF может быть ингибирована IL-10, IFN γ и IL-4.

В.В. Черных и соавт. установили достоверное снижение уровней GM-CSF в ВГЖ у больных с развитой стадией ПОУГ относительно показателей у пациентов с неосложненной катарактой [6]. В нашем исследовании в ВГЖ пациентов с развитой ПОУГ и группы этот цитокин не был обнаружен, однако определялся в 13% проб больных с далеко зашедшей стадией глаукомы. Также нами выявлена тенденция ($p=0,06$) к увеличению GM-CSF в СЖ пациентов II группы по отношению к контролю. Эти находки позволяют думать об участии GM-CSF в патогенезе ПОУГ и нуждаются в целенаправленных исследованиях на большом количестве клинического материала.

FGF-2 – фактор роста фибробластов, участвует в ангиогенезе, заживлении ран и эмбриональном развитии. FGF-2 играет ключевую роль в пролиферации и дифференцировке широкого спектра клеток и тканей; рецепторы к этому фактору активно экспрессируются трабекулярной тканью.

FGF-2 был обнаружен нами только в ВГЖ пациентов с ПОУГ: у трети больных I группы и в 44% случаев при далеко зашедшей глаукоме, при этом концентрация данного цитокина была значимо выше в ВГЖ пациентов II группы.

HGF/SF – фактор роста гепатоцитов, или рассеивающий фактор (SF), обладает сильной митогенной активностью в отношении широкого спектра клеток, описаны его эффекты в отношении эпителиальных и эндотелиальных клеток. HGF/SF играет важную роль в развитии эмбриональных органов, в регенерации органов и в заживлении ран.

В нашей работе сдвиги в локальной и системной продукции цитокина относительно групп контроля и сравнения в исследуемых различных средах имели разнонаправленный

характер. Во всех тест-пробах СК пациентов I и II групп концентрации HGF/SF были ниже таковых контрольной группы. Увеличение содержания данного цитокина отмечалось в СЖ пациентов обеих групп по сравнению с контролем, при этом выявлена тенденция к значимому повышению концентрации HGF/SF в тест-пробах больных с далеко зашедшей ПОУГ. Наконец, во всех образцах ВГЖ пациентов (обеих групп) уровень HGF/SF находился на отметке, значительно превышающей верхнюю границу установленного диапазона группы сравнения, что согласовывалось с данными D.N. Hu et al. [32].

Таким образом, эти данные демонстрируют важные ассоциации HGF/SF с патологическим процессом на продвинутых стадиях глаукомы.

LIF является цитокином семейства интерлейкина-6, обладает нейротрофическими свойствами, влияет на рост и дифференцировку клеток. К настоящему времени роль LIF в патогенезе ПОУГ не установлена.

В нашей работе содержание этого цитокина в СК, выявленного примерно в 44% проб пациентов, было сниженным в сравнении с контрольной группой. Важно отметить, что LIF выявлялся в ВГЖ только пациентов с далеко зашедшей глаукомой.

EGF – эпидермальный фактор роста, белок, стимулирующий клеточный рост и клеточную дифференцировку эпителиального покрова. Публикации, посвященные изучению роли EGF при глаукоме, единичны. В исследовании *in vitro* X. He et al. показано, что клетки трабекулярной сети глаза способны секретировать EGF [33].

В нашей работе выявлены разнонаправленные изменения продукции EGF на локальном и системном уровнях при ПОУГ относительно групп контроля и сравнения.

Так, в СК уровень EGF у пациентов с ПОУГ был ниже группы контроля в обеих исследуемых группах ($p < 0,05$), однако его концентрация в крови была значимо выше у больных с далеко зашедшей глаукомой по сравнению с таковой у больных с развитой стадией. Важно отметить, что EGF достоверно чаще выявлялся в СК больных II группы. Концентрация цитокина в СЖ пациентов обеих групп, наоборот, была увеличена относительно контроля ($p < 0,05$).

EGF обнаружен только в ВГЖ пациентов обеих основных групп: его уровень в тест-пробах больных II группы был достоверно выше такового больных I группы.

Однонаправленные изменения содержания EGF в СЖ и ВГЖ, значимо отличающие две исследуемые группы, позволяют говорить о перспективной возможности использования EGF в качестве локального биомаркера (в СЖ) развитой ПОУГ, однако этот медиатор должен быть изучен на большом клиническом материале.

VEGF-A – сигнальный белок, известный способностью влиять на проницаемость сосудов и ангиогенез. Ранее считалось, что экспрессия VEGF-A ограничивается

эндотелиальными клетками сосудов. Однако в последующих исследованиях установлена важная роль VEGF-A в физиологии нейронов: нейрогенез, миграция и выживание нейронов [34]. На экспериментальных моделях глаукомы у животных установлено, что VEGF-A, продуцируемый ГКС, обеспечивает нейропротекцию, предотвращая гибель клеток, вызванную стресс-реакцией в ответ на компрессионное повреждение и ишемию-реперфузию [35, 36].

Нами не было выявлено достоверных различий содержания VEGF-A в ВГЖ у пациентов с ПОУГ (цитокин обнаруживался в 100% случаев во всех исследуемых тест-пробах) по отношению к группе сравнения, что согласуется с данными работы Y. Takai et al. [24].

Показано, что в СЖ пациентов с глаукомой достоверно повышен уровень VEGF в сравнении с контрольной группой [4]. В нашем исследовании достоверное увеличение концентрации VEGF-A у больных ПОУГ было установлено в обеих группах в 100% случаев только на системном уровне.

Цитокины семейства трансформирующего фактора роста TGF- β

TGF- β 1 продуцируется макрофагами, клетками цилиарного тела и трабекулярной сетью. Цитокин способен ингибировать воспаление, рост эндотелия, ангиогенез, пролиферацию клеток цилиарного тела, участвует в синтезе внеклеточного матрикса и активации фибробластов.

В нашей работе выявлено незначительное снижение уровня TGF- β 1 медиатора в СК пациентов обеих групп относительно контроля.

Аналогичная тенденция наблюдалась при исследовании СЖ, однако, в отличие от данных Д.А. Рукиной и иных [37], при анализе нами не зафиксировано статистически значимых различий.

Ряд исследователей установили, что концентрация TGF- β 1 в ВГЖ пациентов с развитой стадией ПОУГ возрастает в сравнении с группой сравнения (пациенты с возрастной катарактой) [22, 24, 38], однако нам не удалось подтвердить статистическую значимость изменений интраокулярной продукции TGF- β 1 при ПОУГ, несмотря на повышенные концентрации медиатора в ВГЖ исследуемых групп относительно группы сравнения.

TGF- β 2 – представитель цитокинов, который контролирует пролиферацию и дифференцировку разнообразных клеточных типов. TGF- β 2 опосредует необратимое «сшивание» фибронектина за счет усиления экспрессии тканевой трансглутаминазы, тем самым усиливая ригидность трабекулярной сети, что напрямую вызывает повышение уровня внутриглазного давления [39].

Мы получили разнонаправленные сдвиги в содержании цитокина на системном и локальном уровнях.

Достоверное снижение TGF- β 2, обнаруженное нами в СК пациентов обеих исследуемых групп относительно контрольной группы, свидетельствовало о нарушении системной иммунорегуляции (недостаточной иммуносупрессии, дисбалансе про- и противовоспалительных цитокинов) при продвинутых стадиях ПОУГ.

Однако в СЖ пациентов обеих исследуемых групп был выявлен статистически значимый рост уровней изучаемого цитокина по сравнению с контрольной группой.

Концентрация TGF- β 2 в ВГЖ пациентов с ПОУГ была достоверно выше относительно группы сравнения. Подобные данные были получены Т. Guo et al. и В.В. Черных и др. [38, 40].

Содержание TGF- β 2 в ВГЖ больных II группы было статистически значимо увеличено по сравнению с таковым больных I группы.

Выводы

1. Проведено комплексное исследование содержания 47 широкой панели цитокинов в СК, СЖ и ВГЖ пациентов с ПОУГ на развитой и далеко зашедшей стадиях.
2. Показано, что продвинутые стадии заболевания сопровождаются изменениями системной продукции 10 медиаторов (IL-1RA, IL-18, RANTES/CCL5, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, SCF, VEGF-A, TGF- β 2), отражающих нарушения в звеньях иммунорегуляции (IL-18, IL-1RA, TGF- β 2), контроля клеточной миграции (RANTES/CCL5), трофических факторов (EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, SCF, VEGF-A) на уровне всего организма, и в значительной степени характеризуются локальными сдвигами большинства цитокинов, обладающих различными биологическими эффектами (IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, TNF α , GRO- α /CXCL1, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, GM-CSF, EGF, HGF/SF, LIF, PDGF-BB, SCF, TGF- β 2).
3. Уточнены данные о наиболее изученных медиаторах в аспекте патогенеза ПОУГ (IL-6, IL-8, TNF α , TGF- β 1, TGF- β 2): значимое повышение их содержания в СЖ и ВГЖ пациентов свидетельствует о развитии и доминировании локального деструктивно-воспалительного процесса.
4. Определены новые молекулярные участники развития заболевания: IL-1RA, IL-4, IL-7, SDF-1 α /CXCL12, Eotaxin/CCL11.
5. Изменения концентраций цитокинов в СК (IL-1RA, EGF) и ВГЖ (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-17A, IL-18, TNF α , IL-8/CXCL8, MIP-1 β /CCL4, EGF, LIF, TGF- β 2) пациентов достоверно отличаются при сравнении развитой и далеко зашедшей стадий ПОУГ, что указывает на важную роль данных медиаторов в патогенезе заболевания и на потенциальную возможность их использования в качестве биомаркеров прогрессирования глаукоматозного процесса.

Список литературы

1. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014. Vol. 121. no. 11. P. 2081-2090. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
2. Нероев В.В., Киселева О.А., Бессмертный А.М. Основные результаты мультицентрового исследования эпидемиологических особенностей первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации // *Российский офтальмологический журнал*. 2013. Т. 6. № 3. С. 43-46.
3. Ten Berge J.C., Fazil Z., van den Born I., Wolfs R.C.W., Schreurs M.W.J., Dik W.A., Rothova A. Intraocular cytokine profile and autoimmune reactions in retinitis pigmentosa, age-related macular degeneration, glaucoma and cataract. *Acta Ophthalmol*. 2019. Vol. 97. no. 2. P. 185-192. DOI: 10.1111/aos.13899.
4. Burgos-Blasco B., Vidal-Villegas B., Saenz-Frances F., Morales-Fernandez L., Perucho-Gonzalez L., Garcia-Feijoo J., Martinez-de-la-Casa J.M. Tear and aqueous humour cytokine profile in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2020. Vol. 98. no. 6. P. e768-e772. DOI: 10.1111/aos.14374.
5. Engel L.A., Muether P.S., Fauser S., Hueber A. The effect of previous surgery and topical eye drops for primary open-angle glaucoma on cytokine expression in aqueous humor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014. Vol. 252. no. 5. P. 791-799. DOI: 10.1007/s00417-014-2607-5.
6. Черных В.В., Коненков В.И., Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Обухова О.О., Еремина А.В., Трунов А.Н. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // *Бюллетень сибирской медицины*. 2019. Т. 18. № 1. С. 257-265. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265.
7. Kokubun T., Tsuda S., Kunikata H., Yasuda M., Himori N., Kunimatsu-Sanuki S., Maruyama K., Nakazawa T. Characteristic Profiles of Inflammatory Cytokines in the Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018. Vol. 26. no. 8. P. 1177-1188. DOI: 10.1080/09273948.2017.1327605.
8. Pantalon A., Obada O., Constantinescu D., Feraru C., Chiselița D. Inflammatory model in patients with primary open angle glaucoma and diabetes. *Int. J. Ophthalmol*. 2019. Vol. 12. no. 5. P. 795-801. DOI: 10.18240/ijo.2019.05.15.
9. Созуракова Е.А., Громакина Е.В., Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В., Шахматов К.С. Особенности локальной и системной иммунной регуляции при катаракте // *Медицина в Кузбассе*. 2018. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://mednauki.ru/index.php/MK/article/view/216/458> (дата обращения: 30.05.2021).

10. Zhang Q., Adisheshaiah P., Reddy S.P. Matrix metalloproteinase/epidermal growth factor receptor/mitogen-activated protein kinase signaling regulate fra-1 induction by cigarette smoke in lung epithelial cells. *Am J. Respir Cell Mol Biol.* 2005. Vol. 32. no. 1. P. 72-81. DOI: 10.1165/rcmb.2004-0198OC.
11. Барычева Л.Ю., Хайт Г.Я., Какулия М.Г., Берновская А.А., Какулия Д.М. Клинико-патогенетическое значение про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы // *Современные проблемы науки и образования.* 2017. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26250> (дата обращения: 30.05.2021).
12. Агарков Н.М., Чухраёв А.М., Яблокова Н.В. Диагностика и прогнозирование первичной открытоугольной глаукомы по уровню местных цитокинов // *Медицинская иммунология.* 2019. Т. 21. № 6. С. 1163-1168.
13. Чередниченко Л.П., Барычева Л.Ю., Берновская А.А. Роль про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы // *Кубанский научный медицинский вестник.* 2012. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-pro-i-protivovospalitelnyh-tsitokinov-v-razvitii-pervichnoy-otkrytoougolnoy-glaukomu> (дата обращения: 30.05.2021).
14. Слепова О.С., Арапиев М.У., Ловпаче Д.Н., Балацкая Н.В., Куликова И.Г. Особенности местного и системного цитокинового статуса у здоровых разного возраста и пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы // *Национальный журнал глаукома.* 2016. Т. 15. № 1. С. 3-12. DOI: 10.1097/00004647-199605000-00004.
15. Егорова Э.В., Борзенко С.А., Сускова В.С., Еременко И.Л. Особенности иммунного реагирования у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой с использованием дренажных имплантатов // *Офтальмохирургия.* 2015. № 3. С. 13-18.
16. Chono I., Miyazaki D., Miyake H., Komatsu N., Ehara F., Nagase D., Kawamoto Y., Shimizu Y., Ideta R., Inoue Y. High interleukin-8 level in aqueous humor is associated with poor prognosis in eyes with open angle glaucoma and neovascular glaucoma. *Sci Rep.* 2018. Vol. 8. no. 1. P. 1-11. DOI: 10.1038/s41598-018-32725-3.
17. Черных В.В. Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Обухова О.О., Горбенко О.М., Шваюк А.П., Еремина А.В., Трунов А.Н. Особенности содержания провоспалительных цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях при первичной открытоугольной глаукоме // *Сибирский научный медицинский журнал.* 2018. Т. 38. № 5. С. 5-10. DOI: 10.15372/SSMJ20180501.
18. Iolyeva M., Aebischer D., Proulx S.T., Willrodt A.H., Ecoiffier T., Häner S., Bouchaud G, Krieg C., Onder L., Ludewig B., Santambrogio L., Boyman O., Chen L., Finke D., Halin C.

Interleukin-7 is produced by afferent lymphatic vessels and supports lymphatic drainage. *Blood*. 2013. Vol. 122. no. 13. P. 2271-2281. DOI: 10.1182/blood-2013-01-478073.

19. Gu C., Wu L., Li X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine*. 2013. Vol. 64. no. 2. P. 477-85. DOI: 10.1016/j.cyto.2013.07.022.

20. Zhou X., Li F., Kong L., Chodosh J., Cao W. Anti-inflammatory effect of pigment epithelium-derived factor in DBA/2J mice. *Mol Vis*. 2009. Vol. 15. P. 438-450.

21. Balaiya S., Edwards J., Tillis T., Khetpal V., Chalam K.V. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2011. Vol. 5. P. 553-556. DOI: 10.2147/OPTH.S19453.

22. Khalef N., Labib H., Helmy H., El Hamid M.A., Moemen L., Fahmy I. Levels of cytokines in the aqueous humor of eyes with primary open angle glaucoma, pseudoexfoliation glaucoma and cataract. *Electron Physician*. 2017. Vol. 9. no. 2. P. 3833-3837. DOI: 10.19082/3833.

23. Wang J.J., Williams W., Wang B., Wei J., Lu X., Cheng J.W., Gordon J.R., Li J.M., Li F. Cytotoxic effect of interleukin-8 in retinal ganglion cells and its possible mechanisms. *Int. J. Ophthalmol*. 2018. Vol. 11. no. 8. P. 1277-1283. DOI: 10.18240/ijo.2018.08.05.

24. Takai Y., Tanito M., Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012. Vol. 53. no. 1. P. 241-7. DOI: 10.1167/iovs.11-8434. PMID: 22159018.

25. Ulhaq Z.S. Chemokine IL-8 level in aqueous humor of open-angle glaucoma: A meta-analysis. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2020. Vol. 95. no. 3. P. 114-119. DOI: 10.1016/j.oftal.2019.11.014.

26. Zhang X., Liao Y., Ye T. Correlations of SDF-1 and CXCR4 levels with caspase-3 expression in the retina of rats after optic nerve injury. *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. 2020. Vol. 13. no. 8. P. 2058-2064.

27. Lai P., Li T., Yang J., Xie C., Zhu X., Xie H., Ding X., Lin S., Tang S. Upregulation of stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) expression in microvasculature endothelial cells in retinal ischemia-reperfusion injury. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008. Vol. 246. no. 12. P. 1707-1713. DOI: 10.1007/s00417-008-0907-3.

28. Chiu K., Yeung S.C., So K.F., Chang R.C. Modulation of morphological changes of microglia and neuroprotection by monocyte chemoattractant protein-1 in experimental glaucoma. *Cell Mol Immunol*. 2010. Vol. 7. no 1. P. 61-68. DOI: 10.1038/cmi.2009.110.

29. Puxeddu I., Bader R., Piliponsky A.M., Reich R., Levi-Schaffer F., Berkman N. The CC chemokine eotaxin/CCL11 has a selective profibrogenic effect on human lung fibroblasts. *J. Allergy Clin Immunol*. 2006. Vol. 117. no. 1. P. 103-110. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.08.057.

30. Zweifel M., Matozan K., Dahinden C., Schaffner T., Mohacsi P. Eotaxin/CCL11 levels correlate with myocardial fibrosis and mast cell density in native and transplanted rat hearts. *Transplant Proc.* 2010. Vol. 42. no. 7. P. 2763-2766. DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.05.152.
31. Mangieri D., Corradi D., Martorana D., Malerba G., Palmisano A., Libri I., Bartoli V., Carnevali M.L., Goldoni M., Govoni P., Alinovi R., Buzio C., Vaglio A. Eotaxin/CCL11 in idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2012. Vol. 27. no. 10. P. 3875-3884. DOI: 10.1093/ndt/gfs408.
32. Hu D.N., Ritch R. Hepatocyte growth factor is increased in the aqueous humor of glaucomatous eyes. *J. Glaucoma.* 2001. Vol. 10. no. 3. P. 152-157. DOI: 10.1097/00061198-200106000-00002.
33. He X., Li M. The expression of EGF mRNA and EGF receptors in human trabecular meshwork cells in vitro. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 1997. Vol. 33. no. 6. P. 406-409.
34. Mackenzie F., Ruhrberg C. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. *Development.* 2012. Vol. 139. no. 8. P. 1371-1380. DOI: 10.1242/dev.072348.
35. Foxton R.H., Finkelstein A., Vijay S., Dahlmann-Noor A., Khaw P.T., Morgan J.E., Shima D.T., Ng Y.S. VEGF-A is necessary and sufficient for retinal neuroprotection in models of experimental glaucoma. *Am J. Pathol.* 2013. Vol. 182. no. 4. P. 1379-1390. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.12.032.
36. Nishijima K., Ng Y.S., Zhong L., Bradley J., Schubert W., Jo N., Akita J., Samuelsson S.J., Robinson G.S., Adamis A.P., Shima D.T. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury. *Am J. Pathol.* 2007. Vol. 171. no. 1. P. 53-67. DOI: 10.2353/ajpath.2007.061237.
37. Рукина Д.А., Догадова Л.П., Маркелова Е.В., Абдуллин Е.А., Хохлова А.С. Иммунологические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы // *PMЖ. Клиническая офтальмология.* 2011. Т. 12. № 4. С. 162-165.
38. Черных В.В., Коненков В.И., Орлов Н.Б., Ермакова О.В., Ходжаев Н.С., Трунов А.Н. Особенности содержания трансформирующих факторов роста – бета 1,2,3 (TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3) во внутриглазной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме // *Офтальмохирургия.* 2019. № 2. С. 13-17. DOI: 10.25276/0235-4160-2019-2-13-17.
39. Prendes M.A., Harris A., Wirostko B.M., Gerber A.L., Siesky B. The role of transforming growth factor β in glaucoma and the therapeutic implications. *Br. J. Ophthalmol.* 2013. Vol. 97. no. 6. P. 680-686. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2011-301132.
40. Guo T., Guo L., Fan Y., Fang L., Wei J., Tan Y., Chen Y., Fan X. Aqueous humor levels of TGFβ2 and SFRP1 in different types of glaucoma. *BMC Ophthalmol.* 2019. Vol. 19. no. 1. P. 170. DOI: 10.1186/s12886-019-1183-1.