

Оценка влияния сопутствующей глаукомы на уровень биологически активных эндогенных веществ во внутриглазной жидкости при эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса и вторичной буллезной кератопатии

Н.В. Фисенко¹Т.А. Демур²Г.А. Осипян¹К.С. Аветисов¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»
ул. Россолимо, 11а, б, Москва, 119021, Российская Федерация

² ФGAOU BO «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)
ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2023;20(2):253–259

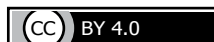
Цель: изучить влияние первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) как коморбидного состояния на содержание биологически активных эндогенных веществ во внутриглазной жидкости (ВГЖ) при эндотелиальной дистрофии Фукса (ЭД Фукса) и вторичной буллезной кератопатии (БК). **Методы.** В исследование включены 58 пациентов (58 глаз). 1-я группа представлена 22 пациентами с ЭД Фукса (1а группа — 11 больных с ПОУГ II–IIIА, 1б группа — 11 больных без сопутствующей офтальмопатологии). 2-ю группу составили 28 пациентов с вторичной БК (2а группа — 19 больных с ПОУГ II–IIIА, 2б группа — 9 пациентов без сопутствующей офтальмопатологии). 3-я (контрольная) группа представлена 8 пациентами с незрелой катарактой. Больным 1-й и 2-й групп выполнили эндотелиальную кератопластику, пациентам 3-й группы — фактоэмульсификацию с имплантацией интраокулярной линзы. Проведено гистологическое исследование удаленных при кератопластике десцеметовых мембран (ДМ) с окрашиванием гематоксилином и эозином. У всех больных интраоперационно получены образцы ВГЖ, проведен мультиплексный анализ концентрации IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 β и TNF- α . **Результаты.** Клинические диагнозы — ЭД Фукса (1-я группа) и вторичная БК (2-я группа) — морфологически подтверждены. Мультиплексный анализ состава ВГЖ показал при ЭД Фукса и вторичной БК, независимо от наличия ПОУГ, повышение IL-8, MCP-1, IFN- γ по сравнению с контролем. При ЭД Фукса и коморбидной ПОУГ (1а группа), а также при вторичной БК (2а и 2б группы) отмечена высокая концентрация IL-6. Влияние сопутствующей ПОУГ на течение локального воспаления при ЭД Фукса и вторичной БК подтверждают повышение MIP-1 β и снижение GM-CSF по сравнению с контролем. Сопоставление концентраций IL-12 при вторичной БК показало, что ПОУГ как коморбидное состояние ассоциировано с более низким уровнем этого цитокина во ВГЖ. Сочетание ЭД Фукса с ПОУГ приводит к снижению во ВГЖ IL-13 по сравнению с контролем. **Заключение.** При ЭД Фукса ПОУГ как коморбидное состояние способствует активному иммунному ответу, опосредованному секрецией биологически активных эндогенных веществ. Вторичная БК как при наличии сопутствующей ПОУГ, так и в ее отсутствие сопровождается выраженным иммуноопосредованным локальным воспалением.

Ключевые слова: эндотелиальная дистрофия Фукса, буллезная кератопатия, глаукома, цитокин, внутриглазная жидкость, мультиплексный анализ

Для цитирования: Фисенко НВ, Демур ТА, Осипян ГА, Аветисов КС. Оценка влияния сопутствующей глаукомы на уровень биологически активных эндогенных веществ во внутриглазной жидкости при эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса и вторичной буллезной кератопатии. *Офтальмология*. 2023;20(2):253–259. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-2-253-259>

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует



The Influence of Glaucoma as a Comorbidity on Cytokine Expression in Aqueous Humor of Patients with Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy and Bullous Keratopathy

N.V. Fisenko¹, T.A. Demura², G.A. Osipyan¹, K.S. Avetisov¹

¹ M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases
Rossolimo str., 11A, B, Moscow, 119021, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
Trubetskaya str., 8/2, Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2023;20(2):253–259

Purpose: to evaluate the effect of primary open-angle glaucoma (POAG) as a comorbidity on cytokine expression in aqueous humor (AqH) of patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy (FECD) and bullous keratopathy (BK). **Patients and methods.** In this prospective consecutive case study 58 patients (58 eyes) were divided into 2 main groups. Group 1 (22 patients with FECD) included 11 patients with coexisting POAG II–IIIa (group 1a) and 11 patients without ocular comorbidity (group 1b). Group 2 (28 patients with BK) consisted of 19 patients with coexisting POAG II–IIIa (group 2a) and 9 patients without ocular comorbidity (group 2b). Group 3 (control) included 8 patients with cataract. The patients of groups 1 and 2 underwent endothelial keratoplasty. Intraoperatively obtained recipients' Descemet's membranes (DMs) were investigated histologically (hematoxylin/eosin staining). A total of 58 AqH samples were collected from consecutive patients who underwent endothelial keratoplasty (groups 1a, 1b, 2a, 2b) or cataract surgery (controls). The AqH levels of cytokines (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 β and TNF- α) were compared among the groups. **Results.** Clinical diagnoses of FECD (group 1) and BK (group 2) were confirmed by the results of morphologic study. The levels of IL-8, MCP-1, IFN- γ were significantly higher in AqH samples from FECD and BK groups (regardless of the presence or absence of POAG) compared with the controls. IL-6 level was significantly elevated in FECD with coexisting POAG (group 1a) and BK (groups 2a and 2b) than in the controls. The influence of POAG on the local inflammation in FECD and BK is confirmed by the increased level of MIP-1 β and the low concentration of GM-CSF compared with the controls. Among BK eyes (groups 2a and 2b), POAG as a comorbidity (group 2a) was associated with decreased level of IL-12. FECD with coexisting POAG was characterized with lower level of IL-13 in AqH than in the controls. **Conclusions.** POAG as a comorbid pathology in patients with FECD leads to high immune response mediated by cytokines expression. BK regardless of coexisting POAG is associated with severe local immune inflammation.

Keywords: Fuchs endothelial corneal dystrophy, bullous keratopathy, glaucoma, cytokine, aqueous humor, multiplex analysis

For citation: Fisenko NV, Demura TA, Osipyan GA, Avetisov KS. The Influence of Glaucoma as a Comorbidity on Cytokine Expression in Aqueous Humor of Patients with Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy and Bullous Keratopathy. *Ophthalmology in Russia*. 2023;20(2):253–259. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-2-253-259>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

Известно, что глаукома — группа хронических заболеваний глаз различной этиологии, сопровождающихся периодическим или постоянным повышением офтальмотонуса, атрофией зрительного нерва и характерными изменениями поля зрения [1, 2]. По данным ВОЗ, в настоящее время в мире данная патология выявлена у более 64,3 миллиона человек; проведенные исследования показывают, что к 2040 г. заболеваемость глаукомой возрастет на 74,0 % (по сравнению с 2013 г.) и составит 76 миллионов человек [3].

Как правило, повышение внутриглазного давления (ВГД) при глаукоме вызвано нарушением баланса между продукцией и оттоком внутриглазной жидкости (ВГЖ) [2]. При первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) затруднение оттока ВГЖ обусловлено ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса трабекулярного аппарата и шлеммова канала — основных элементов дренажной системы глаза. Данный патологический процесс возникает на фоне хронического локального воспаления, вызванного действием различных биологически активных эндогенных веществ (цитокины,

факторы роста и т.п.), секретируемых макрофагами и эндотелиальными клетками трабекулярной сети [4]. По данным ряда авторов, ПОУГ сопровождается изменением состава водянистой влаги передней камеры глаза и слезной жидкости [5–11].

В связи с этим ПОУГ можно рассматривать, в том числе, как состояние, при котором происходит нарушение системы «иммунной привилегии» глаза. ПОУГ включает в себя специфические механизмы, обеспечивающие подавление иммунного ответа (афферентная блокада), вызывающие его девиацию (иммунная толерантность) и приводящие к удалению эффекторных иммунных клеток (эфферентная блокада). К основным компонентам эфферентной блокады относят биологически активные вещества, циркулирующие в ВГЖ, а также специфические молекулы, экспрессируемые на мембранах эндотелиальных клеток (ЭК) роговицы. Так, при отсутствии офтальмопатологии, в случае появления антигенов в ВГЖ, происходит активация цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов и подавление CD4⁺ Т-клеток, формирующих Th-1 или Th-2 иммуноопосредованный ответ [12].

Помимо участия в формировании иммунного ответа ЭК формируют полупроницаемый барьер между роговичной тканью и влагой передней камеры глаза, обеспечивающий сохранение протеогликанового матрикса стромы в относительно дегидратированном состоянии [13]. Дисфункция эндотелиального слоя, обусловленная необратимым снижением плотности ЭК, приводит к отеку стромы и эпителия роговицы с образованием микрокист и булл, то есть к развитию буллезной кератопатии (БК). К причинам появления эндотелиальной дисфункции относят генетически детерминированные патологические изменения эндотелия и десцеметовой мембраны (ДМ), в том числе эндотелиальную дистрофию роговицы Фукса (ЭД Фукса) [14]. Развитие вторичной БК связано с повреждением ЭК при интраокулярных хирургических вмешательствах, инфекционных заболеваниях структур переднего отрезка глаза, а также при повышении уровня офтальмотонуса, в том числе у пациентов с ПОУГ [15].

Цель настоящего исследования — изучение влияния ПОУГ как коморбидного состояния на содержание биологически активных эндогенных веществ в ВГЖ у пациентов с ЭД Фукса и вторичной БК.

МЕТОДЫ

В исследование были включены 58 пациентов (58 глаз). 1 группа была представлена 22 пациентами с диагнозом ЭД Фукса. В 1а подгруппу были включены 11 больных с ПОУГ II–IIIА стадии, в 1б подгруппу — 11 больных без сопутствующей офтальмопатологии. 2-ю группу составили 28 пациентов с вторичной БК. Среди них 19 больным был поставлен диагноз ПОУГ II–IIIА стадии (2а подгруппа), 9 пациентов не имели сопутствующей офтальмопатологии (2б подгруппа). 3-я (контрольная) группа была представлена 8 пациентами с диагнозом «незрелая катаракта». Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1).

Критериями не включения пациентов в исследование были наличие острых воспалительных заболеваний глаза, гемофтальма, аутоиммунных и неопластических заболеваний любой локализации.

Больным 1-й и 2-й групп выполнили заднюю послойную кератопластику (автоматизированную эндоте-

лиальную кератопластику с удалением ДМ, Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty — DSAEK, или изолированную трансплантацию ДМ с эндотелием, Descemet's membrane endothelial keratoplasty — DMEK), пациентам 3-й группы — факоэмульсификацию с имплантацией интраокулярной линзы. До операции всем пациентам измеряли толщину центральной зоны роговицы (RTVue-100, Optovue, США) (табл. 1).

Удаленные при кератопластике образцы ДМ были направлены на гистологическое исследование для морфологической верификации диагноза ЭД Фукса и вторичной БК. Материал фиксировали в 10 % растворе формалина с фосфатным буфером, заливали в парафин, затем готовили серийные парафиновые срезы, которые депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином. Для изучения состояния ДМ применяли инвертированный микроскоп Leica DM-2500 с фотокамерой Leica DFC 295. Морфометрический анализ проводили с использованием программы Leica Application Suite V4.8 (Leica Microsystems, Швейцария).

У всех больных, включенных в исследование, на начальном этапе операции через парацентез инсулиновым шприцом с иглой 30G были получены образцы ВГЖ (100–150 мкл), которые затем хранили при температуре -80 °С. Перед проведением иммунологического анализа образцы ВГЖ размораживали в условиях 18–20 °С и центрифугировали при температуре 4 °С со скоростью 10 000 оборотов/мин в течение 10 мин. Концентрацию цитокинов (IL — Interleukin: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17; G-CSF — Granulocyte Colony-Stimulating Factor; Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor — GM-CSF; Interferon γ — IFN- γ ; Monocyte Chemoattractant Protein-1 — MCP-1; Macrophage Inflammatory Protein-1 β — MIP-1 β ; Tumor Necrosis Factor α — TNF- α) в ВГЖ определяли с помощью лазерного иммуноанализатора Bio-Plex 200 System (Bio-Rad, США) методом флуоресцентной проточной цитометрии с использованием стандартной 17-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine Grp I Panel 17-plex (Bio-Rad, США). Последующую обработку результатов проводили с помощью приложения Bio-Plex Manager 6.0 Properties (Bio-Rad, США).

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов (N = 58)

Table 1. Clinical characteristics of patients (N = 58)

Основной диагноз / The main diagnosis	Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса / Fuchs endothelial corneal dystrophy (N = 22)		Вторичная буллезная кератопатия / Bullous keratopathy (N = 28)		Контроль / Control (N = 8)
	Первичная открытоугольная глаукома II–IIIА / Primary open-angle glaucoma II–IIIА (N = 11)	Без сопутствующей офтальмопатологии / Without ocular comorbidity (N = 11)	Первичная открытоугольная глаукома II–IIIА / Primary open-angle glaucoma II–IIIА (N = 19)	Без сопутствующей офтальмопатологии / Without ocular comorbidity (N = 9)	
Группа / Group	1а	1б	2а	2б	3
Пол (м/ж) / Gender (male/female)	8/3	2/9	10/9	6/3	1/7
Возраст (лет) / Age (years), M $\pm$ m	75,5 $\pm$ 9,0	69,2 $\pm$ 10,4	73,2 $\pm$ 8,9	72,8 $\pm$ 9,5	74,3 $\pm$ 4,1
Толщина роговицы (мкм) / Corneal thickness (μ m), M $\pm$ m	845,7 $\pm$ 125,6	693,9 $\pm$ 68,9	766,8 $\pm$ 81,3	762,9 $\pm$ 53,9	554,0 $\pm$ 25,0
DSAEK/DMEK/Факоэмульсификация / DSAEK/DMEK/Phacoemulsification	7/4/0	5/6/0	12/7/0	8/1/0	0/0/8

Статистический анализ данных выполняли с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. При нормальном распределении (согласно тесту Колмогорова — Смирнова) количественные переменные были представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения ($M \pm m$); при ненормальном распределении — в виде медианы и квартилей ($Me [Q_1; Q_3]$). Сравнение групп по количественным показателям выполняли с использованием критерия Краскела — Уоллиса с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При морфологическом исследовании парафиновых срезов ДМ, полученных у пациентов 1-й группы во время задней послойной кератопластики, клинический диагноз ЭД Фукса был подтвержден. Во всех случаях ДМ состояла из переднего «полосатого» слоя толщиной $2,91 \pm 1,25$ мкм и заднего «неполосатого» слоя с прилежащими к нему коллагеновыми структурами (гуттами) — $15,82 \pm 2,20$ мкм (рис. 1).

Морфометрический анализ парафиновых срезов ДМ пациентов 2-й группы показал во всех случаях отсутствие гутт, при этом толщина переднего «полосатого» слоя ДМ в среднем составила $2,61 \pm 0,49$ мкм, а заднего «неполосатого» слоя — $9,95 \pm 1,82$ мкм (рис. 2). Полученные данные подтвердили клинический диагноз вторичной БК у пациентов, включенных во 2-ю группу.

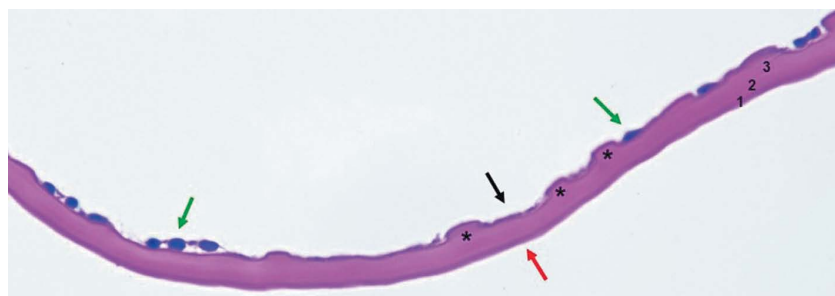


Рис. 1. Морфологическое строение десцеметовой мембраны (ДМ) при эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса. Парафиновые срезы, окраска гематоксилин/эозин, $\times 100$

Fig. 1. The structure of Descemet's membrane (DM) in eyes with Fuchs endothelial corneal dystrophy. Paraffin-embedded sections, hematoxylin/eosin staining, $\times 100$

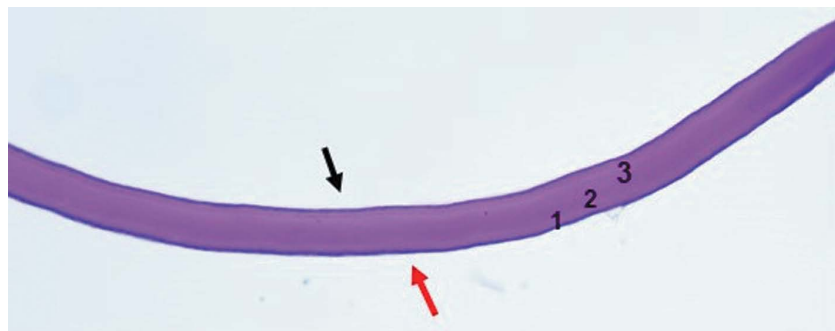


Рис. 2. Морфологическое строение десцеметовой мембраны (ДМ) при вторичной буллезной кератопатии. Парафиновый срез, окраска гематоксилин/эозин, $\times 100$

Fig. 2. The structure of Descemet's membrane (DM) in patients with pseudophakic bullous keratopathy. Paraffin-embedded section, hematoxylin/eosin staining, $\times 100$

Флуоресцентная проточная цитометрия ВГЖ с использованием мультиплексного анализа концентрации биологически активных веществ показала у больных 1-й и 2-й групп, независимо от наличия сопутствующей ПОУГ, статистически значимое повышение уровня IL-8 и MCP-1 по сравнению с показателями пациентов 3-й группы (табл. 2, 3).

Ранее М. Mattehei и соавт. представили данные, подтверждающие высокую концентрацию MCP-1 в ВГЖ пациентов с ЭД Фукса в стадии декомпенсации [16]. Повышение уровня IL-8 и MCP-1 было выявлено при изучении состава ВГЖ пациентов с вторичной БК различной этиологии (в том числе в сочетании с ПОУГ) [17, 18]. Проведенные исследования ВГЖ у пациентов с ПОУГ (в отсутствие коморбидной офтальмопатологии) выявили высокие показатели IL-8 и MCP-1 [5, 8, 11]. Кроме того, было обнаружено, что эндотелиальные клетки трабекулярной сети могут секретировать IL-8, тем самым поддерживая хронический локальный воспалительный процесс при ПОУГ [19].

Как известно, MCP-1 — β -хемокин, секретируемый макрофагами и обладающий преимущественно провоспалительными свойствами, определяющий направленное движение моноцитов, базофилов, Th1-лимфоцитов и естественных киллеров (natural killers, NK) в патологическом очаге [20]. Повышение уровня MCP-1 приводит к ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса

стромы роговицы и трабекулярного аппарата глаза. Кроме того, MCP-1 играет ключевую роль в обеспечении эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток. При ЭД Фукса этот фактор обеспечивает приобретение ЭК фенотипических признаков фибробластов, позволяющих им образовывать гутты [16].

IL-8 относят к α -хемокинам, синтезируемым макрофагами/моноцитами, NK-клетками, Th2-субпопуляцией $CD4^+$ -клеток. Основная роль IL-8 заключается в стимуляции процесса миграции нейтрофилов и базофилов в очаг воспаления. Помимо этого, IL-8 способствует продукции таких цитокинов, как IL-1 β , IL-6 и TNF- α , а также индуцирует процесс ангиогенеза [20]. Высокий уровень экспрессии IL-8 в эпителиальных клетках, кератоцитах и ЭК роговицы при вторичной БК подтверждает роль данного цитокина как медиатора хронического воспаления [21].

Принято считать, что IFN- γ активно участвует в регуляции иммунных процессов [20]. Нами было выявлено повышение концентрации IFN- γ в ВГЖ у больных 1-й и 2-й групп (вне зависимости от наличия коморбидной ПОУГ)

Таблица 2. Содержание биологически активных эндогенных веществ (пг/мл) во внутриглазной жидкости у пациентов с эндотелиальной дистрофией Фукса**Table 2.** Cytokine levels (pg/ml) in aqueous humor of patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy

Показатель / Parameter	1a	16	3	p
	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	
IL-6	44,71 [12,79; 630,84]	2,59 [1,80; 7,40]	2,09 [0,91; 3,50]	0,002 $p_{1a-3} = 0,001$ $p_{16-3} = 0,496$ $p_{1a-16} = 0,066$
IL-8	21,24 [4,55; 62,73]	1,64 [0,72; 7,45]	0,13 [0,04; 0,38]	<0,001 $p_{1a-3} < 0,001$ $p_{16-3} = 0,024$ $p_{1a-16} = 0,108$
IL-12	0,16 [0,16; 0,18]	0,18 [0,17; 0,20]	0,18 [0,16; 0,18]	1,000 $p_{1a-3} = 1,000$ $p_{16-3} = 1,000$ $p_{1a-16} = 1,000$
IL-13	0,07 [0,07; 0,08]	0,08 [0,07; 0,08]	0,08 [0,08; 0,09]	0,002 $p_{1a-3} = 0,001$ $p_{16-3} = 0,117$ $p_{1a-16} = 0,329$
GM-CSF	0,08 [0,07; 0,09]	0,09 [0,08; 0,10]	0,10 [0,09; 0,11]	0,016 $p_{1a-3} = 0,012$ $p_{16-3} = 0,206$ $p_{1a-16} = 0,764$
IFN-γ	4,65 [3,20; 10,47]	2,48 [1,33; 3,44]	0,94 [0,40; 1,00]	<0,001 $p_{1a-3} < 0,001$ $p_{16-3} = 0,023$ $p_{1a-16} = 0,568$
MCP-1	128,30 [82,93; 216,91]	102,15 [57,53; 181,68]	57,17 [38,83; 59,84]	0,001 $p_{1a-3} = 0,001$ $p_{16-3} = 0,051$ $p_{1a-16} = 0,549$
MIP-1β	1,17 [0,93; 2,08]	0,95 [0,71; 1,64]	0,71 [0,38; 0,88]	0,019 $p_{1a-3} = 0,016$ $p_{16-3} = 0,166$ $p_{1a-16} = 1,000$

по сравнению с контролем (табл. 2, 3). Сходные данные представлены в работе Т. Yamaguchi и соавт. при исследовании состава ВГЖ пациентов с псевдофакичной БК, ЭД Фукса, а также с низкой плотностью ЭК роговицы [17]. В то же время группой авторов был выявлена высокая концентрация уровня IFN-γ у больных со вторичной БК различного генеза, в том числе в сочетании с ПОУГ [18]. В различных исследованиях было показано, что ПОУГ сопровождается повышением уровня IFN-γ в ВГЖ, что свидетельствует о хроническом локальном иммунном воспалительном процессе [6, 7].

Известно, что основная роль IFN-γ заключается в формировании Th1-опосредованного ответа. I. Lahdou и соавт. было показано, что *in vitro* IFN-γ в высоких концентрациях стимулирует экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) II типа на мембранах ЭК роговицы. В результате происходит активация CD4⁺-клеток с их последующей дифференцировкой в Th1- и Th2-лимфоциты. При этом IFN-γ стимулирует секрецию субпопуляции Th1-клеток и угнетает выработку Th2-клеток [22]. Интересно, что экспозиция первичной культуры ЭК

Таблица 3. Содержание биологически активных эндогенных веществ (пг/мл) во внутриглазной жидкости у пациентов с вторичной буллезной кератопатией**Table 3.** Cytokine levels (pg/ml) in aqueous humor of patients with bullous keratopathy

Показатель / Parameter	2a	26	3	p
	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	
IL-6	18,64 [6,81; 174,40]	16,62 [4,51; 89,15]	2,09 [0,91; 3,50]	0,001 $p_{2a-3} = 0,001$ $p_{26-3} = 0,015$ $p_{2a-26} = 1,000$
IL-8	6,25 [3,44; 15,59]	3,79 [1,87; 9,62]	0,13 [0,04; 0,38]	<0,001 $p_{2a-3} < 0,001$ $p_{26-3} = 0,006$ $p_{2a-26} = 1,000$
IL-12	0,160 [0,150; 0,180]	0,18 [0,18; 0,22]	0,18 [0,16; 0,18]	0,034 $p_{2a-3} = 1,000$ $p_{26-3} = 0,412$ $p_{2a-26} = 0,028$
GM-CSF	0,07 [0,07; 0,09]	0,09 [0,08; 0,09]	0,10 [0,09; 0,11]	0,001 $p_{2a-3} = 0,001$ $p_{26-3} = 0,220$ $p_{2a-26} = 0,307$
IFN-γ	3,08 [2,02; 6,14]	1,55 [1,11; 3,57]	0,94 [0,40; 1,00]	0,001 $p_{2a-3} < 0,001$ $p_{26-3} = 0,040$ $p_{2a-26} = 0,375$
MCP-1	112,18 [87,80; 140,79]	118,13 [79,47; 145,54]	57,17 [38,83; 59,84]	0,001 $p_{2a-3} = 0,001$ $p_{26-3} = 0,005$ $p_{2a-26} = 1,000$
MIP-1β	1,92 [0,65; 4,13]	1,30 [0,60; 1,73]	0,71 [0,38; 0,88]	0,037 $p_{2a-3} = 0,035$ $p_{26-3} = 0,753$ $p_{2a-26} = 0,637$

с раствором, содержащим INFγ, TNF-α и IL-1β, приводит к экспрессии индуцированной NO-синтазы, катализирующей образование оксида азота, обладающего выраженным цитотоксическим действием [23]. Вероятно, именно это является одной из причин, обуславливающей высокую концентрацию INFγ в ВГЖ пациентов с низкой плотностью ЭК [17]. Вместе с тем ЭК, обладая выраженными иммуномодулирующими свойствами, способны подавлять превращение Th-клеток в Th1-лимфоциты. Данный эффект обусловлен наличием на клеточных мембранах PD-лигандов (programmed death-ligand, PDL), которые при взаимодействии с PD молекулами Th-клеток препятствуют их дифференцировке, запуская процесс апоптоза [24].

При ЭД Фукса в сочетании с ПОУГ (1a группа) и вторичной БК (2a и 26 группы) нами отмечено повышение уровня IL-6 по сравнению с контролем (табл. 2, 3). Н. Yazu и соавт. при исследовании концентрации цитокинов, циркулирующих во ВГЖ, также обнаружили высокие показатели IL-6 у пациентов с вторичной БК различной этиологии, в том числе при наличии ПОУГ как коморбидной офтальмопатологии [18]. Сходные изменения состава ВГЖ были описаны при ЭД Фукса и псевдофакичной БК [17, 25]. В то же время различными исследователями, независимо друг от друга, было показано

статистически значимое повышение уровня IL-6 в ВГЖ, сопровождающее течение ПОУГ [5, 8].

С. Taurone и соавт. выполнили иммуногистохимический анализ образцов трабекулярного аппарата глаза, полученных у пациентов с ПОУГ при антиглаукомной операции, который показал выраженную экспрессию IL-6 [4]. Рядом авторов также были представлены данные, свидетельствующие о том, что эпителиальные клетки роговицы, кератоциты и ЭК при определенных условиях также секретируют IL-6 [26, 27]. Как известно, IL-6 является мультифункциональным цитокином, обладающим провоспалительным и иммунорегуляторным действием. Он стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов. Кроме того, IL-6 подавляет секрецию IL-1 и TNF α , способствуя завершению активного иммунного ответа [20].

Влияние ПОУГ на течение локального воспалительного процесса при ЭД Фукса и вторичной БК подтверждают повышение уровня MIP-1 β и снижение уровня GM-CSF во ВГЖ пациентов 1а и 2а группы, по сравнению с контролем (табл. 2, 3).

MIP-1 β относят к β -хемокинам, продуцируемым в основном макрофагами стромы роговицы, а также трабекулярного аппарата глаза. Клетками-мишенями для них служат моноциты, Th1-клеток и NK-клетки [20]. ПОУГ, по данным ряда авторов, характеризуется высокой концентрацией MIP-1 β , обладающего провоспалительным действием, в водянистой влаге передней камеры глаза [5, 10]. Результаты, представленные в работе Т. Yamaguchi и соавт., подтверждают выявленное в нашем исследовании отсутствие значимых различий в концентрации MIP-1 β между ЭД Фукса без ПОУГ (1б группа) и контролем. Вместе с тем этими авторами было показано повышение уровня данного фактора у пациентов с псевдофакической БК без сопутствующей офтальмопатологии [17].

GM-CSF является фактором роста, продуцируемым Th1-лимфоцитами, в ряде случаев Th2- и CD8⁺-клетками [20]. Полученные нами результаты согласуются с данными Т. Kokubun и соавт., выявивших снижение уровня GM-CSF у пациентов с ПОУГ [10]. В.В. Черных также обнаружил низкую концентрацию этого биологически активного эндогенного вещества при ПОУГ [5]. Результаты мультиплексного анализа ВГЖ у пациентов с БК свидетельствуют о повышении концентрации GM-CSF. Вместе с тем гетерогенность причин, обусловивших развитие БК у пациентов, включенных в это исследование (ятрогенное повреждение эндотелия при факоэмульсификации, трабекулэктомии, лазерной иридэктомии, а также ЭД Фукса и поздней несостоятельности кератотрансплантата) не позволяют сделать однозначный вывод по его результатам [17].

Важно отметить, что у пациентов с ЭД Фукса, вне зависимости от наличия коморбидной ПОУГ (1а и 1б группы), не отмечено достоверных различий в уровне IL-12 в ВГЖ по сравнению с контролем. Вместе с тем при сравнении показателей вторичной БК (2а и 2б группы) нами обна-

ружено, что ПОУГ как коморбидное состояние ассоциировано с достоверно более низкой концентрацией IL-12 (табл. 2, 3). Полученные данные согласуются с результатами, представленными Т. Kokubun и соавт., показавшими, что ПОУГ ассоциирована с низким уровнем IL-12 [10]. Однако в различных работах, посвященных изучению состава ВГЖ при ПОУГ, был показан высокий уровень IL-12 при ПОУГ [5–7]. Было также выявлено повышение IL-12 у пациентов с БК различной этиологии [17]. Как известно, IL-12 относят к провоспалительным цитокинам, продуцируемым макрофагами, дендритными клетками, а также цитотоксическими Т-лимфоцитами. Его основная функция заключается в стимуляции процесса дифференцировки Th-клеток в Th1-субпопуляцию. По принципу обратной связи IFN- γ усиливает выработку IL-12 клетками [20]. В связи с этим остается неясным снижение концентрации IL-12 у пациентов с вторичной БК и ПОУГ, что требует проведения дополнительных исследований.

Нами было выявлено, что сочетание ЭД Фукса с ПОУГ (1а группа) приводит к снижению во влаге передней камеры уровня IL-13, по сравнению с контролем (табл. 2, 3). Данный цитокин синтезируют Th2-клетки, к его основным биологическим эффектам относят участие в формировании Th2-опосредованного иммунного ответа, ингибирование продукции провоспалительных факторов макрофагами, а также стимуляцию пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов [20]. Низкая концентрация IL-13 в ВГЖ может быть косвенным подтверждением Th-1 предрасположенного иммунного ответа. Вместе с тем полученные нами данные противостоят результатам исследований Y. Yagi-Yaguchi и соавт., которые показали, что существует обратная корреляционная связь между снижением плотности ЭК различной этиологии и уровнем IL-13 во ВГЖ [28]. Вероятно, требуются дальнейшие исследования для определения роли IL-13 в формировании иммунного ответа при ПОУГ, а также ЭД Фукса и вторичной БК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о различии в степени выраженности влияния сопутствующей ПОУГ на формирование локального иммунного воспаления у пациентов с ЭД Фукса и вторичной БК. Так, при ЭД Фукса ПОУГ как коморбидное состояние способствует активному иммунному ответу, опосредованному секрецией биологически активных эндогенных веществ. Вторичная БК как при наличии сопутствующей ПОУГ, так и при ее отсутствии сопровождается выраженным иммуноопосредованным локальным воспалением.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Фисенко Н.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка результатов, написание текста;
Осипян Г.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование;
Демура Т.А. — концепция и дизайн исследования, редактирование;
Аветисов К.С. — сбор и обработка материала.

Н.В. Фисенко, Т.А. Демура, Г.А. Осипян, К.С. Аветисов

Контактная информация: Фисенко Наталья Владимировна natfisenko@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Национальное руководство по глаукоме для практикующих врачей. Под ред. Егорова ЕА, Астахова ЮС, Еричева ВП. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 456 с. Ophthalmology: national manual. Ed. Egorova EA, Astakhova YuS, Ericheva VP. 3-e ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 456 p. (In Russ.).
2. Terminology and guidelines for glaucoma (European Glaucoma Society). 5th edition. Ed. Azuara-Blanco A. Savona: PubliComm, 2020. 170 p.
3. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081–2090. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
4. Taurone S, Ripandelli G, Pacella E, Bianchi E, Plateroti AM, De Vito S, Plateroti P, Grippaudo FR, Cavallotti C, Artico M. Potential regulatory molecules in the human trabecular meshwork of patients with glaucoma: immunohistochemical profile of a number of inflammatory cytokines. *Mol Med Rep*. 2015;11(2):1384–1390. doi: 10.3892/mmr.2014.2772.
5. Черных ВВ, Коненков ВИ, Ермакова ОВ, Орлов НБ, Обухова ОО, Еремينا АВ, Трунов АН. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Бюллетень сибирской медицины. 2019;18(1):257–265. Chernykh VV, Konenkov VI, Ermakova OV, Orlov NB, Obukhova OO, Eremina AV, Trunov AN. Content of cytokines and growth factors in the intraocular fluid of patients with primary open-angle glaucoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(1):257–265 (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265.
6. Burgos-Blasco B, Vidal-Villegas B, Saenz-Frances F, Morales-Fernandez L, Peruch-Gonzalez L, Garcia-Feijoo J, Martinez-de-la-Casa JM. Tear and aqueous humour cytokine profile in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2020;98(6):e768–e772. doi: 10.1111/aos.14374.
7. Chua J, Vania M, Cheung CM, Ang M, Chee SP, Yang H, Li J, Wong TT. Expression profile of inflammatory cytokines in aqueous from glaucomatous eyes. *Mol Vis*. 2012;18:431–438.
8. Engel LA, Muether PS, 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;252(5):791–799. doi: 10.1007/s00417-014-2607-5.
9. Inoue T, Kawaji T, Inatani M, Kameda T, Yoshimura N, Tanihara H. Simultaneous increases in multiple proinflammatory cytokines in the aqueous humor in pseudophakic glaucomatous eyes. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(8):1389–1397. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.04.028.
10. 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*. 2017;16:1–12. doi: 10.1080/09273748.2017.1327605.
11. 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;53(1):241–247. doi: 10.1167/iops.11-8434.
12. Hori J, Yamaguchi T, Keino H, Hamrah P, Maruyama K. Immune privilege in corneal transplantation. *Prog Retin Eye Res*. 2019;72:100758. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.04.002.
13. Edelhauser HF. The balance between corneal transparency and edema: the Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(5):1754–1767. doi: 10.1167/iops.05-1139.
14. Труфанов СВ, Саловарова ЕИ, Маложен СА, Бар РЗ. Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса. *Вестник офтальмологии*. 2017;133(6):106–112. Trufanov SV, Salovarova EI, Malozhen SA, Bagh RZ. Fuchs endothelial corneal dystrophy. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 2017;133(6):106–112 (In Russ.). doi: 10.17116/oftalma20171336106-112.
15. Pricopie S, Istrate S, Voinea L, Leasu C, Paun V, Radu C. Pseudophakic bullous keratopathy. *Rom J Ophthalmol*. 2017;61(2):90–94. doi: 10.22336/rjo.2017.17.
16. Matthaei M, Gillesen J, Muether PS, Hoerster R, Bachmann BO, Hueber A, Cursiefen C, Heindl LM. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT)-related cytokines in the aqueous humor of phakic and pseudophakic Fuchs' Dystrophy eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(4):2749–2754. doi: 10.1167/iops.15-16395.
17. Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Nakayama N, Yagi-Yaguchi Y, Dogru M, Satake Y, Shimazaki J. Elevated cytokine levels in the aqueous humor of eyes with bullous keratopathy and low endothelial cell density. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(14):5954–5962. doi: 10.1167/iops.16-20187.
18. Yazu H, Yamaguchi T, Aketa N, Higa K, Suzuki T, Yagi-Yaguchi Y, Satake Y, Abe T, Tsubota K, Shimazaki J. Preoperative aqueous cytokine levels are associated with endothelial cell loss after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(2):612–620. doi: 10.1167/iops.17-23049.
19. Alvarado JA, Alvarado RG, Yeh RF, Franse-Carman L, Marcellino GR, Brownstein MJ. A new insight into the cellular regulation of aqueous outflow: how trabecular meshwork endothelial cells drive a mechanism that regulates the permeability of Schlemm's canal endothelial cells. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(11):1500–1505. doi: 10.1136/bjo.2005.081307.
20. Пальцев МА, Иванов АА, Северин СЕ. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 2003. 288 с. Palcev MA, Ivanov AA, Severin SE. Cellular interactions. Moscow: Medicina; 2003. 288 p. (In Russ.).
21. Rosenbaum JT, Planck ST, Huang XN, Rich L, Ansel JC. Detection of mRNA for the cytokines, interleukin-1α and interleukin-8, in corneas from patients with pseudophakic bullous keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36(10):2151–2155.
22. Lahdou I, Engler C, Mehrlé S, Daniel V, Sadeghi M, Opelz G, Terness P. Role of human corneal endothelial cells in T-cell-mediated alloimmune attack in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:1213–1221. doi: 10.1167/iops.13-11930.
23. Sagoo P, Chan G, Larkin DF, George AJ. Inflammatory cytokines induce apoptosis of corneal endothelium through nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(11):3964–3973. doi: 10.1167/iops.04-0439.
24. Sugita S, Usui Y, Horie S, Futagami Y, Yamada Y, Ma J, Kezuka T, Hamada H, Usui T, Mochizuki M, Yamagami S. Human corneal endothelial cells expressing programmed death-ligand 1 (PD-L1) suppress PD-1+ T helper 1 cells by a contact-dependent mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(1):263–272. doi: 10.1167/iops.08-2536.
25. Фисенко НВ, Труфанов СВ, Аветисов КС, Вторушина ВВ, Суббот АМ. Определение уровня цитокинов во внутриглазной жидкости при эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса и вторичной буллезной кератопатии. Вестник офтальмологии. 2021;137(3):13–18. Fisenko NV, Trufanov SV, Avetisov KS, Vtorushina VV, Subbot AM. Evaluation of preoperative aqueous cytokine levels in eyes with Fuchs endothelial corneal dystrophy and bullous keratopathy. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 2021;137(3):13–18 (In Russ.). doi: 10.17116/oftalma20211370313.
26. Cubitt CL, Lausch RN, Oakes JE. Differences in interleukin-6 gene expression between cultured human corneal epithelial cells and keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36(2):330–336.
27. Yamagami H, Yamagami S, Inoki T, Amano S, Miyata K. The effects of proinflammatory cytokines on cytokine-chemokine gene expression profiles in the human corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(2):514–520. doi: 10.1167/iops.02-0498.
28. Yagi-Yaguchi Y, Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Aketa N, Dogru M, Satake Y, Shimazaki J. Association between corneal endothelial cell densities and elevated cytokine levels in the aqueous humor. *Sci Rep*. 2017;7(1):13603. doi: 10.1038/s41598-017-14131-3.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»
Фисенко Наталья Владимировна
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
ул. Россоломо, 11а, 6, Москва, 119021, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0001-7198-4498>

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)
Демур Татьяна Александровна
доктор медицинских наук, директор Института клинической морфологии и цифровой патологии в составе Сеченовского Университета
ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-6946-6146>

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»
Осиян Григорий Альбертович
доктор медицинских наук, старший научный сотрудник
ул. Россоломо, 11а, 6, Москва, 119021, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-1056-4331>

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»
Аветисов Константин Сергеевич
доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник
ул. Россоломо, 11а, 6, Москва, 119021, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0001-9195-8908>

ABOUT THE AUTHORS

M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases
Fisenko Natalia V.
PhD, senior researcher
Rossolimo str., 11A, B, Moscow, 119021, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-7198-4498>

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
Demura Tatiana A.
MD, director of Clinical morphology and digital pathology institute (in Sechenov University)
Trubetskaya str., 8/2, Moscow, 119991, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-6946-6146>

M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases
Osipyan Grigoriy A.
MD, senior researcher
Rossolimo str., 11A, B, Moscow, 119021, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-1056-4331>

M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases
Avetisov Konstantin S.
MD, leading researcher
Rossolimo str., 11A, B, Moscow, 119021, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-9195-8908>