

На правах рукописи

**Ермакова Ольга Викторовна**

**ПРОЯВЛЕНИЯ ПРОЦЕССА ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ  
ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ**

**14.03.03 - патологическая физиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Новосибирск 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Новосибирский филиал) и в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Новосибирск)

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Трунов Александр Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, руководитель  
лаборатории физиологии протективной системы  
«Научно-исследовательский институт клинической  
и экспериментальной лимфологии» — филиал  
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр  
Институт цитологии и генетики Сибирского  
отделения Российской академии наук

**Повещенко Александр Федорович**

доктор медицинских наук, заведующая  
офтальмологическим отделением ГБУЗ НСО  
«Государственная Новосибирская областная  
клиническая больница»

**Фурсова Анжелла Жановна**

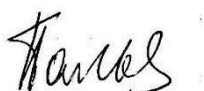
**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

Защита диссертации состоится в \_\_\_\_ часов \_\_\_\_\_ 2019 г. Диссертационный совет Д 001.048.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» по адресу: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Тел./факс 8 (383) 333-64-56 <https://frcftm.ru/fits-ftm/dissertatsionnye-sovety/dissertatsionnyj-sovet-d-001-048-01/>

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

**Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.**

Учёный секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук



**Пальчикова Н. А.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время многими исследователями отмечается высокая распространенность первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ), как в Российской Федерации так и во всём мире, при этом многие авторы обращают внимание на прогрессивное нарастание частоты встречаемости глаукоматозного процесса, значимый уровень медико-социальных и экономических потерь для общества во всех регионах мира (Егоров Е. А., Куроедов А. В., 2012; Юрьева Т. Н., 2014; Авдеев Р. В. и др., 2015; Никифорова Е. Б., Карлова Е. В., 2015; Stevens G. et al., 2013; Naidoo K. et al., 2014; Keefte J. 2014; Tham Y. C. et al., 2014; Bourne R. R. et al., 2016; Muratov S. et al., 2016; Song P. 2017).

Анализ данных научных публикаций, посвященных изучению различных аспектов патогенеза ПОУГ, позволяет сделать заключение, что одним из значимых его факторов являются морфологические изменения в дренажной системе глаза, которые приводят к усилению сопротивления оттоку внутриглазной жидкости (ВГЖ) и повышению внутриглазного давления (ВГД). В результате этих исследований было установлено, что при глаукоме в трабекулярном аппарате развивается дезорганизация коллагеновых и эластических волокон, происходит пролиферация эндотелиальных клеток шлеммова канала, что в дальнейшем, приводит к облитерации шлеммова и коллекторных каналов. Также было выявлено, что уже на начальной стадии развития заболевания возникают признаки деструктивного процесса, дезорганизация соединительной ткани, наблюдается фибриноидное набухание, а в более поздних стадиях патологического процесса гиалиноз с потерей архитектоники трабекулярной ткани и её склерозирование (Кулешова О. Н. и др., 2014; Трунов А. Н. и др., 2016; Черных В. В. и др., 2018; Chaudhry H. A. et al., 1979; Tektas O. Y., Lütjen-Drecoll E., 2009; Sihota R. et al., 2012; Taurone S. et al., 2015; Huang A. S. et al., 2016; Song M. M. et al., 2017; Wang K. et al., 2017). Выявленные в исследованиях изменения в целом можно рассматривать как проявления воспалительного процесса.

Анализ данных научной литературы позволяет констатировать, что одним из нерешенных вопросов, связанных с изучением механизмов развития первичной открытоугольной глаукомы, остается значимость в нем воспалительного процесса и, связанных с ним нарушений содержания цитокинов, регулирующих межклеточные взаимоотношения.

**Степень разработанности темы исследования.** Первые исследования, посвященные изучению роли воспалительного процесса и дисбаланса цитокинов в патогенезе ПОУГ, начали проводиться с конца XX в. и продолжаются до настоящего времени. В этих исследованиях было показано, что в слезной жидкости (СЖ) происходит повышение содержания биологически активных молекул, связанных с развитием иммуновоспалительного процесса (различных классов

цитокинов, факторов роста, матриксных металлопротеиназ и др.) (Черных В. В., 2005, 2006; Еричев В. П. и др., 2010; Чередниченко Л. П. и др., 2013; Соколов В. А. и др., 2013; Хохлова А. С. и др., 2014; Трунов А. Н. и др., 2016; Benitez-Del-Castillo Sánchez J. et al., 2017).

Существует мнение, что определение цитокинов в слезной жидкости не всегда патогенетически обосновано, поскольку изменение их концентраций в СЖ не отражает процессы, происходящие в органе зрения (Csósz É. et al., 2019).

Более точные данные могут быть получены при тестировании концентраций биологически активных субстанций во внутриглазной жидкости. Однако инвазивность её забора, малый объём ограничивали возможности исследователей. Только использование мультиплексного анализа позволило проводить исследования спектра цитокинов во ВГЖ, достаточного для понимания процессов, происходящих в органе зрения.

В настоящее время в научной литературе описаны результаты немногочисленных исследований, посвященных анализу содержания и баланса цитокинов различных групп во ВГЖ при первичной открытоугольной глаукоме, но их результаты не всегда находят подтверждение в других исследованиях и являются поводом для продолжающейся научной дискуссии (Chua J. et al., 2012; Takai Y. et al., 2012; Freedman J. et al., 2013; Agarwal P. et al., 2015; Sarenac Vulovic T. S. et al., 2016; Tong Y. et al., 2017; Kokubun T. et al., 2018; Pantaloni A. et al., 2019; Ten Berge J.C. et al., 2019).

При исследовании содержания цитокинов во ВГЖ пациентов с глаукомой был выявлено значимое нарастание TGF- $\beta$ 1, ИЛ-8 на фоне снижения ИЛ-6 (Takai Y. et al., 2012), в тоже время в работе Freedman J. et al., 2013, было установлено незначительное повышение цитокинов, таких как ИЛ-6, ИЛ-10 и др., значимым было нарастание концентраций TGF- $\beta$ 2, а в исследовании Sarenac Vulovic T. S. et al., 2016, авторы делают заключение, что только ИЛ-6, а не ИЛ-1 и ИЛ-17, участвуют в механизмах развития ПОУГ. Однако в исследовании Kokubun T. и соавторов при ПОУГ во ВГЖ было выявлено значимое снижение концентраций ИЛ-10, ИЛ-12 и ГМ-КСФ и повышение содержания ИЛ-8, MCP-1 и MIP-1 $\beta$  (Kokubun T. et al., 2018), аналогичное повышение ИЛ-8 выявлено в работе (Ten Berge J. C. et al., 2019).

Наименьшие противоречия в научной литературе возникают при оценке роли в патогенезе ПОУГ суперсемейства трансформирующих факторов роста- $\beta$ . Роль TGF- $\beta$  рассматривают как отрицательный патогенетический момент, реализующийся на фоне воспалительного процесса, что приводит к ремоделированию трабекулярной сети, увеличению сопротивления оттоку ВГЖ и повышению ВГД (Junglas B. et al., 2012; Wordinger R. J. et al., 2015; Agarwal P. et al., 2015; Braunger V. M. et al., 2015; Murphy-Ullrich J. E. et al., 2015; Gajda-Derylo B. et al., 2019). Взаимосвязь между повышением содержания TGF- $\beta$  с цитокинами, играющими роль в патогенезе глаукомы, изучена недостаточно.

Вышеизложенное позволяет констатировать актуальность проведения дальнейших углубленных исследований и позволило сформулировать цель и задачи диссертационного исследования.

**Цель исследования.** Выявить и исследовать особенности проявления местного воспалительного процесса при первичной открытоугольной глаукоме.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить вероятные особенности проявления местного воспалительного процесса путем определения цитокинов, обладающих провоспалительной, противовоспалительной и регуляторной активностью во внутриглазной жидкости у пациентов основной группы с II стадией первичной открытоугольной глаукомы и пациентов с возрастной катарактой, составивших группу сравнения.

2. Изучить проявления пролиферативного компонента местного процесса воспаления путем определения концентраций представителей суперсемейства трансформирующих факторов роста бета (1, 2, 3) во внутриглазной жидкости пациентов обследованных групп.

3. Провести сравнительное определение провоспалительных цитокинов (ИЛ–6, ИЛ–8, ИЛ–17) в слезной и внутриглазной жидкостях пациентов обследованных групп для определения информативности использования неинвазивно доступной биологической жидкости при исследовании воспалительного процесса в органе зрения.

4. Методом корреляционного анализа определить наличие и характер взаимосвязей между содержанием изучаемых показателей во внутриглазной жидкости обследованных пациентов.

#### **Научная новизна**

В исследовании впервые установлено, что для II стадии первичной открытоугольной глаукомы, в отличие от пациентов группы сравнения, характерна выраженность местного процесса асептического воспаления, что проявляется в статистически значимом повышении во внутриглазной жидкости концентраций цитокинов, обладающих провоспалительными свойствами (ИЛ–6, ИЛ–8, ИЛ–12, ИЛ–17, макрофагальный воспалительный протеин 1 $\beta$ ), на фоне снижения концентрации цитокинов обладающих противовоспалительной активностью ИЛ–4 и ИЛ–10, а также наличием прямых статистически значимых коррелятивных взаимосвязей между содержанием ИЛ–17 и ИЛ–12, ИЛ–6 и ИЛ–8 и макрофагального воспалительного белка– $\beta$ 1 и ИЛ–8, что свидетельствует о сопряженности их синтеза при развитии первичной открытоугольной глаукомы.

Выявленное в исследовании отсутствие статистически значимых изменений концентраций острофазовых провоспалительных цитокинов (ФНО– $\alpha$  и ИЛ–1 $\beta$ ), при установленных высоких концентрациях ИЛ–6 во внутриглазной жидкости пациентов с II стадией

первичной открытоугольной глаукомы свидетельствуют о хроническом характере местного асептического воспалительного процесса.

В исследовании впервые показано, что для II стадии первичной открытоугольной глаукомы, в отличие от пациентов группы сравнения, характерно наличие признаков местного хронического воспаления с развитием процессов пролиферации, что подтверждается статистически значимо высокими концентрациями трансформирующих факторов роста  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  во внутриглазной жидкости, а также наличием прямых статистически значимых коррелятивных взаимосвязей между содержанием TGF- $\beta 1$  и TGF- $\beta 2$ , TGF- $\beta 2$  и TGF- $\beta 3$ , TGF- $\beta 1$  и TGF- $\beta 3$ , что свидетельствует о сопряженности их синтеза при развитии первичной открытоугольной глаукомы.

В исследовании установлено, что при первичной открытоугольной глаукоме определяются статистически значимые изменения содержания во внутриглазной жидкости цитокинов и факторов роста, отвечающих за развитие воспалительного и пролиферативного процессов, а также иммунного реагирования в их взаимосвязи, что подтверждается наличием прямых и обратных коррелятивных связей между изучаемыми показателями и свидетельствует о воспалительном генезе патологического процесса.

#### **Научно-практическая значимость работы**

Полученные в диссертационном исследовании новые фундаментальные данные расширяют современные представления о патогенезе первичной открытоугольной глаукомы и значимости в механизмах развития патологического процесса местного хронического асептического воспаления.

Полученные в исследовании данные позволяют сделать заключение о том, что для изучения особенностей местного воспалительного процесса при заболеваниях органа зрения, возможно использование в качестве биологического субстрата для определения содержания цитокинов слезную жидкость, единственный атравматично доступный биологический объект, о чём свидетельствуют данные об одностороннем повышении содержания провоспалительных цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Данные настоящего исследования могут быть использованы в преподавании на кафедрах патологической физиологии и глазных болезней, при подготовке врачей-ординаторов высших учебных заведений медицинского профиля в разделах «Воспаление» и «Патогенез глаукомы».

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Для первичной открытоугольной глаукомы важным патогенетическим фактором является местный хронический асептический воспалительный процесс, наличие которого подтверждается высоким содержанием во внутриглазной жидкости цитокинов, обладающих

провоспалительными свойствами, а также снижением содержания цитокинов, обладающих противовоспалительными свойствами.

2. Для II стадии первичной открытоугольной глаукомы характерна активность пролиферативного процесса, свидетельствующая о значимости в патогенезе заболевания хронического воспалительного процесса, что подтверждается высокими концентрациями во внутриглазной жидкости представителей суперсемейства трансформирующих факторов роста  $\beta$ , способных активировать эти процессы.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты диссертационного исследования внедрены в научно-педагогическую деятельность ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии в раздел: «Воспаление»), научную деятельность Новосибирского филиала ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова Минздрава России и лаборатории иммунологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

**Апробация работы.** Результаты диссертационного исследования доложены на XV и XVI Всероссийской научно-практических конференциях с международным участием «Федоровские чтения» (Москва, 2018, 2019), на научно-практической конференции с международным участием «Современная офтальмология: интеграция науки и практики», посвященной 85-летию Казахского НИИ глазных болезней (Алма-Аты, 2018), на XVI конгрессе Российского глаукомного общества (Москва, 2018), на X Международной конференции по офтальмологии «Восток-Запад-2019» (Уфа, 2019), на Всероссийской научно-практической конференции с интернет-трансляцией «Современные тенденции развития офтальмологии – Фундаментально-прикладные аспекты» (Новосибирск, 2019), на объединенном иммунологическом форуме – 2019 (Новосибирск, 2019).

**Публикации.** По материалам диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, в том числе 4 публикаций в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации материалов диссертационных исследований (1 статья в журнале, индексируемом в базе научного цитирования WOS).

**Личный вклад** Автор принимала непосредственное участие офтальмологическом обследовании пациентов и их оперативном лечении, получении и подготовке биологических образцов и проведении лабораторного исследования. Автором самостоятельно проведён поиск и анализ литературы, статистическая обработка полученных данных, оформление диссертационной работы и автореферата.

**Структура и объём диссертации** Диссертация изложена на 132 страницах печатного текста, состоит из введения, аналитического обзора научной литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 223 источников, из них 61 отечественных и 162 зарубежных. Работа иллюстрирована 2 таблицами и 24 рисунками.

**Благодарность.** Автор выражает искреннюю благодарность сотрудникам лаборатории иммуногенетики НИИКЭЛ — филиала ИЦиГ СО РАН (руководитель лаборатории д.м.н., проф., академик РАН В. И. Коненков) за помощь в проведении лабораторных исследований. Материал и методы исследования

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование выполнялось в рамках государственного задания Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, тема НИР «Изучение патогенеза открытоугольной глаукомы на основе оценки дисбаланса цитокинов и факторов роста» государственная регистрация НИОКТР № АААА-А18-118082290059-3; в рамках темы государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» «Изучение особенностей иммунного реагирования и цитокиновой регуляции при хронических воспалительных процессах и их роли в формировании нарушений соматического и репродуктивного здоровья в онтогенезе» государственная регистрация НИОКТР № АААА-А17-117122620020-4.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014 г.) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015 г.) и одобрено комитетом по биомедицинской этике Новосибирского филиала ФГАУ «НИМЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. У всех пациентов было получено информированное согласие на обследование, проведение операции, забор слезной и внутриглазной жидкости, а также использование данных исследования в научных целях.

**Характеристика пациентов обследованных групп.** Были обследованы 50 пациентов с верифицированным, на основании офтальмологического обследования, диагнозом II (развитой) стадии первичной открытоугольной глаукомы (по МКБ10, текущей версии 2016 г. пересмотра —



Н40.1), сопутствующим диагнозом у пациентов основной группы являлась (на фоне глаукомного процесса) катаракта (основная группа). Диагноз был выставлен на основании классификации глаукомы (Нестеров А. П., Егоров Е. А., 2001).

Критериями для постановки диагноза «Первичная открытоугольная глаукома II стадия» послужили:

— выраженное изменение поля зрения в парацентральном отделе, сужение поля зрения с носовой стороны в верхне– или нижненосовом сегменте более чем на 10 градусов относительно нормальных значений, но не менее чем 15 градусов от точки фиксации.

— краевой характер экскавации зрительного нерва (наличие «прорыва» экскавации к краю диска зрительного нерва).

Пациенты исследуемой группы имели компенсированное — < 22 мм рт. ст. (на фоне применения медикаментозной терапии) или умеренно повышенное — < 33 мм рт. ст. внутриглазное давление.

Количество мужчин составило 19 (38 %), женщин — 31 (62 %), средний возраст пациентов равнялся  $62,8 \pm 4,3$  года.

В качестве контрольных значений тестируемых цитокинов были использованы данные исследования внутриглазной и слезной жидкости, полученной до и при хирургическом лечении 30 пациентов с диагнозом возрастная (неосложненная) катаракта (по МКБ10, текущей версии 2016 г. пересмотра — H25), составивших группу сравнения.

Выбор в качестве группы сравнения пациентов с возрастной катарактой, был обусловлен невозможностью по медико-этическим принципам проводить забор внутриглазной жидкости у практически здоровых лиц. В научной литературе, при проведении сравнительных исследований посвященных изучению изменений содержания биологически активных молекул и др. во внутриглазной жидкости при различной офтальмологической патологии, в качестве группы сравнения, как правило, используют ВГЖ пациентов с возрастной катарактой (Takai Y. et al., 2012; Tong Y. et al., 2017; Kokubun T. et al., 2018.)

Количество мужчин в контрольной группе составило 11 (36,7 %), женщин — 19 (63,3 %), средний возраст пациентов равнялся  $64,1 \pm 5,7$  года.

Таким образом, по возрастному признаку и гендерному составу обследованные группы не различались.

Все пациенты прошли предоперационное обследование включающее общий анализ крови, исследование свертывающей системы крови (МНО, фибриноген, протромбиновое время, длительности кровотечения, время свертывания крови), сахар крови, определение суммарных антител к антигенам вирусных гепатитов В и С, исследование крови на наличие антител к вирусу

иммунодефицита человека (ВИЧ, общий анализ мочи, флюорографию, электрокардиограмму, обследование стоматолога, оториноларинголога, терапевта.

Критериями исключения являлись: острые и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, наличие диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, увеита различной этиологии и локализации, гемофтальма, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации, сахарного диабета без офтальмологических проявлений, а также острых и обострений хронических воспалительных заболеваний любой локализации. Из исследования исключались пациенты, оперированные ранее по поводу катаракты, глаукомы и любой другой офтальмологической патологии с использованием как лазерных, так и хирургических методов, а также пациенты, принимавшие для нормализации внутриглазного давления препараты, содержащие аналоги простагландинов, способные активировать воспалительный процесс.

Всем пациентам обследуемых групп была выполнена факоэмульсификация катаракты с имплантацией искусственного хрусталика или сочетанное хирургическое вмешательство: факоэмульсификация катаракты с имплантацией искусственного хрусталика и антиглаукомная операция по показаниям.

#### **Офтальмологические методы исследования**

Всем пациентам обследованных групп, поступившим для лечения в Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, диагноз ставился на основании соответствующего офтальмологического обследования. Проводился подробный сбор анамнеза по общепринятым схемам с детальным уточнением даты постановки диагноза, применяемой медикаментозной терапии, проведенного ранее хирургического и лазерного лечения.

**Определение остроты зрения** проводилось по стандартной методике на автоматическом проекторе офтальмологических знаков НСР-7000 производства Nuvitz (Республика Корея). Определялась не корригированная и лучшая корригированная острота зрения. При значительном снижении зрения (ниже 0,01) выполнялась приблизительная визометрия, определение способности пациента к счету пальцев на различном расстоянии от лица. При отсутствии у пациента остроты зрения, соответствующей счету пальцев, определяли наличие светоощущения. Светоощущение проверяли ручным офтальмоскопом Beta 200 производства компании «Heine» (Германия).

**Биомикроскопия** переднего отрезка глаза осуществлялась при помощи щелевой лампы Carl Zeiss SL 115 Classic (Германия).

**Бинокулярная биомикроофтальмоскопия** проводилась с использованием щелевой лампы Carl Zeiss SL 115 Classic (Германия) и линзы Ocular Max Field 78 Дптр.

**Фоторегистрацию изменений глазного дна** проводили с помощью фундус-камеры Visucam 500 Carl Zeiss (Германия).

**Биомикрогониоскопия** — осмотр угла передней камеры глаза, проводился при помощи четырехзеркального гониоскопа, щелевого микроскопа Carl Zeiss SL 115 Classic (Германия).

**Кинетическая сферопериметрия** — определение полей зрения проводилось с использованием периметра KPM Carl Zeiss (Германия).

**Измерение внутриглазного давления** — с помощью автоматического пневмотонометра Topcon CT-80 (Япония), или с помощью аппланационного тонометра А. Н. Маклакова грузом в 10 грамм по общепринятой методике, или (и) тонометром iCare TA1 (Финляндия).

**Оптическая когерентная томография** — проводилась с использованием томографа CIRRUS 5000, Carl Zeiss (Германия). Показатели зрительного нерва исследовались с помощью протокола сканирования «Optic Disc Cube 200\*200». Оценивались размеры зрительного нерва, размер и объем экскавации зрительного нерва, толщина слоя нервных волокон в различных секторах

### **Лабораторные методы исследования**

В качестве биологического материала для определения содержания изучаемых цитокинов и оценки особенностей местного воспалительного и пролиферативного процесса у пациентов с первичной открыто угольной глаукомой, была выбрана внутриглазная жидкость, забранная на начальных этапах оперативного лечения.

Выбор в качестве биологического субстрата для исследования ВГЖ является патогенетически обоснованным, поскольку в отличие от исследования крови, позволяет оценить изменения, происходящие локально, в месте развития патологического процесса. Поскольку забор ВГЖ возможно проводить только на начальных этапах оперативного лечения, дополнительно, в качестве биологического материала, была выбрана слезная жидкость (СЖ), в которой планировалось тестирование ряда цитокинов, что при сравнении с данными полученными в ВГЖ, позволило бы оценить возможность использования СЖ для не инвазивной оценки активности патологического процесса.

**Забор биологического материала.** У всех пациентов, на начальных этапах проведения операции были забраны образцы внутриглазной жидкости (ВГЖ) в объеме 75–150 мкл инсулиновым шприцом с иглой 23 g через парацентез. Забранную внутриглазную жидкость помещали в сухую герметичную пробирку, замораживали и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения исследования. У всех пациентов до проведения оперативного лечения был проведен забор слезной жидкости, которую набирали микроканюлей из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку, замораживали при  $-70^{\circ}\text{C}$  и хранили в морозильной камере до

момента определения цитокинов. Стимуляция слезопродукции осуществлялась механическим раздражением рецепторных окончаний тройничного нерва слизистой оболочки глаза.

**Определение цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости.** Однократно замороженная ВГЖ размораживалась перед исследованием. Для удаления осадка её центрифугировали при 40°C, 10 000 об./мин., 10 минут. Концентрацию 17 цитокинов и 3 изоформ трансформирующего фактора роста–бета о определяли с использованием наборов фирмы Bio Rad (США) — Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 17-plex Assay и Bio-Plex Pro™ TGF-β 3-plex Assay методом проточной флюориметрии на двухлучевом лазерном анализаторе Bio-Plex 200, Bio-Rad, США. Для обработки данных применялось программное обеспечение Bio-Plex manager Software version 4.1. Концентрация выражалась в пг/мл.

Определение концентрации ИЛ–6, ИЛ–8 и ИЛ17 в слезной жидкости выполнялось с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «Цитокин» (Россия, Санкт-Петербург) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре Униплан (Россия) при длине волны 450 нм. Концентрацию выражали в пг/мл.

#### **Статистические методы исследования**

Полученные числовые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде рисунков и таблиц. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 производства StatSoftInc. (USA). Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью U–критерия Манна–Уитни. Корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — средняя,  $m$  — ошибка средней. Статистически значимыми различиями считали при  $p < 0,05$ .

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Первым этапом настоящего исследования было изучение концентраций, определяемых в соответствии с задачами работы цитокинов и факторов роста, которые могут участвовать в механизмах развития первичной открытоугольной глаукомы во внутриглазной жидкости.

В результате проведенных исследований были получены данные, представленные в таблице 1.

Было установлено отсутствие в ВГЖ пациентов обеих групп фактора некроза опухоли–альфа, ИЛ–5, ИЛ–13, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, интерферона–γ.

В результате проведенного исследования было установлено отсутствие статистически значимого изменения концентрации основного провоспалительного цитокина ИЛ–1β во внутриглазной жидкости пациентов обследованных групп ( $0,13 \pm 0,05$  пг/мл в основной группе и  $0,17 \pm 0,05$  пг/мл в группе сравнения;  $p > 0,05$ ). Аналогичные данные были получены при

определении концентраций моноцитарного хемотаксического белка – 1 (MCP–1), цитокина с провоспалительными свойствами, который является хемоаттрактантом для многих клеток иммунной системы ( $388,34 \pm 21,29$  пг/мл в основной группе и  $356,69 \pm 23,63$  пг/мл в группе сравнения,  $p > 0,05$ ).

Полученные в диссертационном исследовании данные по концентрациям ФНО– $\alpha$  и ИЛ– $1\beta$  и, отчасти, интерферона– $\gamma$  и MCP–1 в ВГЖ пациентов основной и контрольной групп можно рассматривать как факт, свидетельствующий об отсутствии острой стадии местного воспаления у пациентов с II стадией ПОУГ и находят свое подтверждение в ряде исследований. Так в работе, Sarenac Vulovic T. S. et al. (2016) было сделано заключение, что только ИЛ–6, а не ИЛ–1, определяет прогрессию патологического процесса.

Таблица 1

Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости пациентов с ПОУГ и возрастной катарактой, пг/мл,  $M \pm m$

Показатель \ Группа	Основная группа	Группа сравнения	p
ИЛ– $1\beta$	$0,13 \pm 0,05$	$0,17 \pm 0,05$	$p > 0,05$
ИЛ–2	$2,3 \pm 0,23$	$4,22 \pm 0,35$	$p < 0,05$
ИЛ–4	$0,62 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,08$	$p < 0,05$
ИЛ–6	$22,52 \pm 6,94$	$4,32 \pm 0,55$	$p < 0,05$
ИЛ–7	$3,06 \pm 0,48$	$0,90 \pm 0,24$	$p < 0,05$
ИЛ–8	$5,70 \pm 1,74$	$1,41 \pm 0,36$	$p < 0,05$
ИЛ–10	$3,79 \pm 0,10$	$4,62 \pm 0,09$	$p < 0,05$
ИЛ–12	$3,37 \pm 0,21$	$1,97 \pm 0,10$	$p < 0,05$
ИЛ–17	$9,18 \pm 0,48$	$4,66 \pm 0,64$	$p < 0,05$
ГМ–КСФ	$223,63 \pm 9,91$	$373,1 \pm 13,13$	$p < 0,05$
MCP–1	$388,34 \pm 21,29$	$356,69 \pm 23,63$	$p > 0,05$
MIP– $1\beta$	$26,61 \pm 4,72$	$14,28 \pm 1,42$	$p < 0,05$
TGF– $\beta 1$	$304,4 \pm 36,7$	$97,15 \pm 10,9$	$p < 0,05$
TGF– $\beta 2$	$3201,6 \pm 181,1$	$2317,02 \pm 112,8$	$p < 0,05$
TGF– $\beta 3$	$26,83 \pm 4,27$	$4,40 \pm 1,70$	$p < 0,05$

В тоже время нельзя не отметить, что в ряде научных публикациях, в отличии от настоящего исследования, было установлено повышение уровней содержания ФНО– $\alpha$  (Khalef N.

et al, 2017), концентраций ИНФ- $\gamma$  (Chua J. et al., 2012) и MCP-1 (Kokubun T. et al., 2018) во внутриглазной жидкости пациентов с ПОУГ.

Было установлено, что в ВГЖ пациентов основной группы определяются статистически значимо более высокие концентрации ИЛ-6 — полипотентного цитокина, обладающего провоспалительной активностью, являющегося значимым участником процессов хронизации воспалительного процесса, аутоиммунного реагирования, а также обладающего способностью активировать процессы антителообразования и регулировать синтез ряда провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 $\beta$  и др. В основной группе пациентов значения изучаемого показателя во внутриглазной жидкости составили  $22,52 \pm 6,94$  пг/мл, что более чем в 5 раз превышало значения концентраций ИЛ-6 в ВГЖ пациентов группы сравнения ( $4,32 \pm 0,55$  пг/мл,  $p < 0,05$ ).

Также было показано, что в ВГЖ пациентов основной группы определяются статистически значимо более высокие концентрации (более чем в 4 раза), относительно данных полученных в группе сравнения, ИЛ-8, хемоаттрактанта, обладающего провоспалительными свойствами, который синтезируется рядом иммунокомпетентных клеток и активирует миграцию клеток иммунной системы в очаги повреждения при развитии местного деструктивно-воспалительного процесса ( $5,70 \pm 1,74$  пг/мл и  $1,41 \pm 0,36$  пг/мл, соответственно,  $p < 0,05$ ).

В результате проведенного исследования было установлено, что в основной группе определяются статистически значимо высокие концентрации (в 1,7 раза) провоспалительного цитокина ИЛ-12, который продуцируется макрофагами, дендритными клетками, а также нейтрофилами и др. и участвует в развитии Т-хелпер-1 опосредованного ответа, а его высокий уровень может привести к активации аутоиммунного реагирования ( $3,37 \pm 0,21$  пг/мл и  $1,97 \pm 0,10$  пг/мл, соответственно,  $p < 0,05$ ).

Важным представляется, установленный в диссертационном исследовании факт, выявления статистически значимо более высоких концентраций ИЛ-17 в ВГЖ пациентов основной группы, поскольку данный цитокин, вырабатываемый Т-лимфоцитами хелперами (CD4+T-helper (Th17)), обладает провоспалительными свойствами, является одним из ключевых в механизмах развития местного воспалительного процесса. Было установлено, что в основной группе пациентов, значения изучаемого показателя во ВГЖ составили  $9,18 \pm 0,48$  пг/мл, что в 1,9 раза превышало значения концентраций ИЛ-17 в ВГЖ группы сравнения  $4,66 \pm 0,64$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

К фактам, подтверждающим наличие местного воспалительного процесса в механизмах развития ПОУГ можно отнести, выявленные в исследовании статистически значимо более высокие концентрации в ВГЖ пациентов основной группы MIP-1 $\beta$ , хемокина обладающего провоспалительными свойствами, за счет которых стимулирует хемотаксис клеток иммунной системы и совместно с ИЛ-8 участвует в инициации и развитии воспалительных процессов.

В основной группе пациентов значения изучаемого показателя составили  $26,61 \pm 4,72$  пг/мл, что в 1,6 раза превышало значения концентраций МIP-1 $\beta$  в ВГЖ группы сравнения, которые составляли  $14,28 \pm 1,42$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в настоящем исследовании при оценке содержания цитокинов, обладающих провоспалительными свойствами в ВГЖ пациентов обследованных групп, было показано их статистически значимые большие концентрации у пациентов основной группы, что позволяет сделать заключение о роли в патогенезе ПОУГ хронического асептического воспалительного процесса.

Существующие в научной литературе данные о содержании провоспалительных цитокинов в ВГЖ при ПОУГ достаточно противоречивы, но в целом подтверждают сделанное заключение. Так в исследовании Chua J. et al. (2012) было установлено повышение концентраций ИЛ-12, а в исследованиях Takai Y. et al. (2012) было показано значимое нарастание ИЛ-8 в образцах ВГЖ пациентов с глаукомой, в тоже время Takai Y. демонстрирует значительное снижение концентраций ИЛ-6 в ВГЖ обследованных пациентов, что входит в противоречие с данными, полученными в настоящем исследовании.

Подобное повышение ИЛ-8 было установлено и в других исследованиях (Khalef N. et al., 2017; Chono I., et al., 2018).

В тоже время в исследовании Kokubun T. et al. (2018) было показано, что при ПОУГ в ВГЖ было выявлено значимое повышение ИЛ-8, МIP-1 $\beta$ , что совпадает с данными, полученными в диссертационной работе. Однако автор также приводит сведения о снижении во внутриглазной жидкости обследованных пациентов с ПОУГ концентраций ИЛ-12.

Sarenac Vulovic T. S. (2016) утверждает, что при изучении содержания цитокинов, обладающих провоспалительными свойствами, во внутриглазной жидкости пациентов с ПОУГ было установлено, что только ИЛ-6, а не ИЛ-1, ИЛ-17 и другие провоспалительные цитокины связаны с прогрессией патологического процесса, за счет способности инициировать местное хроническое воспаление с развитием фибротических изменений (Sarenac Vulovic T. S. et al., 2016).

Важным для развития патологического процесса представляются данные об изменениях концентраций цитокинов, обладающих противовоспалительной активностью в ВГЖ пациентов обследованных групп.

В исследовании было установлено наличие статистически значимо более низких концентраций ИЛ-4, цитокина, повышение концентраций которого приводит к активации иммунного реагирования по Т-хелпер-2 опосредованному пути, участвующего в развитии аутоиммунного воспаления, а также антителогенеза, в ВГЖ пациентов основной группы.

В основной группе пациентов, значения изучаемого показателя в ВГЖ составили  $0,62 \pm 0,06$  пг/мл, что в 1,5 раза было ниже значения концентраций ИЛ–4 в ВГЖ пациентов группы сравнения  $0,93 \pm 0,08$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

В научной литературе существуют единичные работы, свидетельствующие об изменениях содержания этого цитокина во внутриглазной жидкости при ПОУГ (Chono I., et al., 2018). В свете известных свойств ИЛ–4, представляется логичным связывать установленное изменение его концентраций с возможным снижением провоспалительного потенциала возникающего в механизмах развития ПОУГ.

Важным представляются данные о статистически значимо более низких концентрациях в ВГЖ пациентов основной группы ИЛ–10, противовоспалительного и иммунорегуляторного цитокина, способного регулировать синтез ряда факторов роста, угнетать продукцию провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы.

В основной группе пациентов, значения изучаемого показателя в ВГЖ составили  $3,79 \pm 0,10$  пг/мл, что было в 1,3 раза ниже значения концентраций ИЛ–10 в ВГЖ пациентов группы сравнения  $4,62 \pm 0,09$  пг/мл ( $p < 05$ ).

Полученные в исследовании данные, свидетельствующие о статистически значимом снижении концентраций ИЛ–10 в ВГЖ пациентов с ПОУГ находят свое подтверждение в научной литературе (Kokubun T. et al., 2018).

Полученные нами результаты могут быть рассмотрены с точки зрения способности ИЛ–10 влиять на развитие Т–хелпер–1 и Т–хелпер–2 опосредованного иммунного реагирования в динамике местного воспалительного процесса, поскольку в научной литературе существуют предположения, что дисбаланс цитокинов Т–хелпер–1/Т–хелпер–2 типа при глаукоме может привести к развитию глаукоматозной оптической нейропатии (Huang P. et al., 2009; Wong M. et al., 2015).

В исследовании было установлено статистически значимое изменение концентраций в ВГЖ пациентов еще ряда цитокинов, однако с учетом свойств этих цитокинов интерпретация результатов требует проведения дальнейших исследований.

В результате проведенного исследования было установлено наличие статистически значимых более низких концентраций во внутриглазной жидкости пациентов основной группы ИЛ–2 — одного из ключевых цитокинов, участвующего в процессах противоопухолевого иммунитета, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, в активации цитолитической активности НК–клеток и др. Его концентрации в ВГЖ основной группы составила  $2,3 \pm 0,23$  пг/мл, что было в 1,8 раза ниже значения его концентраций в ВГЖ пациентов группы сравнения  $4,22 \pm 0,35$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).



Необходимо отметить, что полученные в диссертационной работе результаты не совпадают с некоторыми данными представленными в научной литературе, в которых показано, что в ВГЖ пациентов с глаукомой содержание ИЛ–2 незначительно изменяется при ПОУГ и становится значимым при остром приступе закрытоугольной глаукомы, которая имеет другие механизмы развития (Tong Y. et al., 2017).

В основной группе пациентов было установлено статистически значимое снижение в ВГЖ концентраций гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующего фактора (ГМ–КСФ), значения которого составили  $223,63 \pm 9,91$  пг/мл, что было в 2,8 раза ниже значения концентраций ГМ–КСФ в ВГЖ пациентов группы сравнения, которые составляли  $373,1 \pm 13,13$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Выявленное в диссертационной работе статистически значимое снижение концентраций ГМ–КСФ, цитокина, участвующего в стимуляции активности нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и макрофагов, находит свое подтверждение в работах других исследователей (Kokubun T. et al., 2018).

В свете появившихся в последние годы данных научных исследований, свидетельствующих о наличии структурных элементов лимфатической системы в органе зрения и её роли в процессах выведения и утилизации продуктов жизнедеятельности клеток, развития воспалительного процесса, поддержания гомеостаза организма и др. (Черных В. В. и др., 2015, 2018; Yücel Y. N. et al., 2009; Nakao S. et al., 2010; Kim M. et al., 2011) крайне интересным для обсуждения представляется установленное в исследовании статистически значимое более высокое содержание ИЛ–7 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы.

Данные научной литературы свидетельствуют, что указанный цитокин является высоко активным лимфопоэтическим фактором, который синтезируется многими клетками организма, в том числе эндотелием лимфатических сосудов, участвует в формировании лимфоидных органов (вторичных и третичных), а также в развитии процесса хронического воспаления. В ряде публикаций отмечается его возможная роль в качестве потенциального аутокринного медиатора лимфатического дренажа (Huang H. Y., Luther S. A., 2012; Vonarbourg C., Diefenbach A., 2012; Iolyeva M. et al., 2013).

Значения концентраций изучаемого показателя во внутриглазной жидкости составили  $3,06 \pm 0,48$  пг/мл, что превышало значения содержания ИЛ–7 в ВГЖ пациентов группы сравнения, которые составляли  $0,90 \pm 0,24$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

В исследовании Kokubun T. с соавторами рассматривается изменение концентраций ИЛ–7 при глаукоме. Авторами было показано повышение его концентраций в ВГЖ при неоваскулярной форме глаукомы (патологического процесса, в основе которого лежат другие механизмы) относительно данных, полученных при ПОУГ (Kokubun T. et al., 2018).

В связи с вышеизложенным роль этой биологически активной молекулы при ПОУГ требует дальнейшего углубленного изучения.

В настоящее время многие исследователи уделяют внимание изучению роли суперсемейства трансформирующих фактора роста  $\beta$  в механизмах развития различных патологических процессов, в том числе и глаукомы. Указанное определяется большим спектром биологических эффектов, реализующихся при активации продукции этой группы факторов роста, которые обладают противовоспалительной активностью, активно влияют на процессы фиброобразования, пролиферации, клеточного роста, дифференцировки, синтеза белков внеклеточного матрикса, апоптоз и др. (Ikushima H., Miyazono K., 2011; Kajdaniuk D. et al., 2013; Poniatowski L. et al., 2013; Wordinger R. J. et al., 2014).

Вышеизложенное явилось иницирующим моментом для включения в настоящее исследование определения трансформирующих факторов роста — бета 1, 2, 3 (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3) во внутриглазной жидкости пациентов обследованных групп.

При определении содержания TGF- $\beta$ 1 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы было установлено, что его концентрация составила  $304,4 \pm 36,7$  пг/мл, а его содержание в ВГЖ пациентов группы сравнения было равно  $97,15 \pm 10,9$  пг/мл. Сравнительный анализ полученных данных показал, что концентрация трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы была более чем в 3 раза выше значения показателя в ВГЖ у пациентов группы сравнения и статистически значимо от него отличалась ( $p < 0,05$ ).

При определении содержания TGF- $\beta$ 2 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы было установлено, что его концентрация составила  $3201,6 \pm 181,1$  пг/мл, а его содержание в ВГЖ пациентов группы сравнения было равно  $2317,02 \pm 112,8$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Сравнительный анализ полученных данных показал, что концентрация трансформирующего фактора роста- $\beta$ 2 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы была в 1,4 раза выше значения показателя в ВГЖ у пациентов с возрастной катарактой и статистически значимо от нее отличалась ( $p < 0,05$ ).

При определении содержания TGF- $\beta$ 3 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы было установлено, что его концентрация составила  $26,83 \pm 4,27$  пг/мл, а его содержание в ВГЖ пациентов группы сравнения было равно  $4,40 \pm 1,70$  пг/мл. Сравнительный анализ полученных данных показал, что концентрация трансформирующего фактора роста  $\beta$ 3 во внутриглазной жидкости пациентов основной группы была более чем в 6 раз выше значения показателя в ВГЖ у пациентов группы сравнения и статистически значимо от нее отличалась ( $p < 0,05$ ).

Учитывая свойства представителей этого класса цитокинов, можно предполагать, что активация их синтеза направлена на компенсацию последствий деструктивного воздействия местного воспалительного процесса. Указанные процессы способны приводить к активации синтеза белков внеклеточного матрикса и его ремоделированию в трабекулярной сети, что способно увеличить механическое сопротивление оттоку ВГЖ и повышению ВГД. Указанное имеет принципиальное значения для прогрессирования патологического процесса (Трунов А. Н. и др., 2016; Yu A. L. et al., 2010; Junglas B. et al., 2012; Wordinger R. J. et al., 2015; Agarwal P. et al., 2015; Braunger B. M. et al., 2015; Murphy-Ullrich J. E. et al., 2015).

Полученные в исследовании данные, а также анализ научных публикаций, позволяет сделать предположение, о том, что разнонаправленные изменения концентраций различных классов цитокинов во внутриглазной жидкости пациентов с ПОУГ, могут быть связаны с тем, что в описанных исследованиях пациенты были обследованы на разных стадиях развития заболевания и с различной сохранностью компенсаторных механизмов.

В настоящее время существует точка зрения, что содержание цитокинов в слезной жидкости не всегда отражает процессы, происходящие в органе зрения (Csósz É. et al., 2019), однако в ряде научных исследований было установлено наличие корреляционных взаимосвязей между содержанием ряда цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях (Чернявская М. А. и др., 2015; Шпак А.А. и др., 2017).

Для решения поставленной в исследовании задачи, у всех пациентов до проведения оперативного лечения был проведен забор слезной жидкости и проведено тестирование содержания трёх цитокинов, изменение концентраций которых способно подтвердить активность местного воспалительного процесса (ИЛ–6, ИЛ–8 и ИЛ–17). Проведено сравнение полученных данных в слезной и внутриглазной жидкостях.

В результате проведенных исследований представленные в таблице 2

Проведенное одновременное определение выбранных цитокинов, обладающих провоспалительными свойствами в слезной и внутриглазной жидкостях пациентов основной группы и группы сравнения позволило выявить статистически значимое нарастание концентраций ИЛ–6, ИЛ–8 и ИЛ–17А в обоих биологических субстратах у пациентов основной группы с II стадией ПОУГ.

Выявленное однонаправленное изменение концентраций ИЛ–6 (в 2,8 раза в слезной жидкости и в 5,2 раза во внутриглазной), ИЛ–8 (в 1,5 раза в слезной жидкости и в 4 раза во внутриглазной) и ИЛ–17 (в 1,75 раза в слезной жидкости и в 1,9 раза во внутриглазной) позволяет сделать допущение о возможности использования слезной жидкости для оценки изменений содержания биологически активных веществ в патогенезе офтальмологических заболеваний.

Следующим этапом настоящего исследования было проведение корреляционного анализа полученных данных.

Таблица 2

Содержание цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях пациентов обследованных групп

Группа	Цитокины (пг/мл)		
	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-17А
Группа сравнения, слезная жидкость, n = 30	9,2 ± 2,1	12,6 ± 1,8	18,8 ± 2,1
Основная группа, слезная жидкость, n = 50	25,6 ± 4,8*	18,9 ± 2,3*	32,9 ± 2,5*
Группа сравнения, внутриглазная жидкость, n = 30	4,32 ± 0,55	1,41 ± 0,36	4,66 ± 0,64
Основная группа, внутриглазная жидкость, n = 50	22,52 ± 6,94*	5,70 ± 1,74*	9,18 ± 0,48*

\* — статистически значимо отличается от значений показателя в группе сравнения (p<0,05).

Были выявлены прямые коррелятивные взаимосвязи между TGF-β1 и TGF-β2 (r = 0,41, p < 0,05), между TGF-β2 и TGF-β3 (r = 0,35, p < 0,05), а также TGF-β1 и TGF-β3 (r = 0,83, p < 0,05). Учитывая, что в исследовании были показаны статистически значимо более высокие концентрации TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 в ВГЖ пациентов с II стадией ПОУГ, а также наличие между ними коррелятивных взаимосвязей, можно сделать заключение об их роли в патогенезе ПОУГ, направленной с одной стороны на компенсацию последствий местного воспалительного процесса, а с другой, учитывая их значимость в процессах ремоделирования в трабекулярной сети, рассматривать высокий уровень трансформирующих факторов роста как негативный фактор развития патологического процесса.

Для понимания механизмов развития ПОУГ значимыми представляется группа коррелятивных взаимосвязей между провоспалительными цитокинами: прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями ИЛ-6 и ИЛ-8 (r = 0,45, p < 0,05); прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями макрофагального воспалительного белка-β1 и ИЛ-8 (r = 0,54, p < 0,05). прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями ИЛ-17, и ИЛ-12, (r = 0,32, p < 0,05).

Представляют несомненный интерес еще ряд коррелятивных взаимосвязей, выявленных в исследовании: прямая коррелятивная взаимосвязь между противовоспалительными цитокинами ИЛ-4 и ИЛ-10 (r = 0,54, p < 0,05); прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями противовоспалительного цитокина ИЛ-4 и ИЛ-17, интерлейкина обладающего выраженными

провоспалительными и регуляторными свойствами ( $r = 0,54, p < 0,05$ ); прямая коррелятивная взаимосвязь между концентрациями противовоспалительного ИЛ-10 и ИЛ-17 ( $r = 0,31, p < 0,05$ ).

Представленные коррелятивные взаимосвязи позволяют сделать заключение о сопряженности синтеза различных классов цитокинов у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

### **ВЫВОДЫ**

1. Для первичной открытоугольной глаукомы характерно наличие местного хронического асептического воспалительного процесса в органе зрения, о чем свидетельствуют высокие концентрации во внутриглазной жидкости провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-17, МIP-1 $\beta$  ( $p < 0,05$ )) на фоне снижения концентрации противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10 ( $p < 0,05$ )), а также отсутствие статистически значимых изменений концентраций провоспалительных острофазовых цитокинов (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ).
2. II стадия первичной открытоугольной глаукомы является сформировавшимся хроническим асептическим воспалительным процессом и сопровождается выраженностью местного пролиферативного процесса, о чем свидетельствуют высокие, концентрации трансформирующих факторов роста –  $\beta$  1, 2, 3 ( $p < 0,05$ ), являющихся значимыми участниками этого процесса.
3. Проведенное исследование свидетельствует о возможности использования слезной жидкости для неинвазивной оценки изменений содержания цитокинов при офтальмологических заболеваниях, что подтверждается статистически значимым повышением в слезной и внутриглазной жидкостях пациентов с первичной открытоугольной глаукомой концентраций ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-17.
4. Для II стадии первичной открытоугольной глаукомы характерна взаимосвязь воспалительного, пролиферативного процессов и развитие иммунного реагирования, что подтверждается наличием статистически значимых изменений концентраций цитокинов и факторов роста, участвующих в их развитии и корреляционными взаимосвязями между ними.

### **Практические рекомендации**

Для изучения особенностей местного воспалительного процесса и его динамики в механизмах развития патологических процессов в органе зрения рекомендуется определение цитокинов и факторов роста методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем в слезной жидкости, единственно атравматично доступной биологической жидкости, омывающий поверхность глаза.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Трунов А. Н. Содержание провоспалительных цитокинов в слезной жидкости пациентов с развитой стадией первичной открытоугольной глаукомы / А.Н. Трунов, **О.В. Ермакова**, О. О. Обухова, О. М. Горбенко, А. П. Шваюк, В. В. Черных // Современные технологии в офтальмологии. — 2018. — № 2. — С. 244–247.
2. Черных В. В. Местный воспалительный процесс как возможное проявление нарушений увеолимфатического оттока внутриглазной жидкости при глаукоме. Ч. 2 / В. В. Черных, Н. П. Бгатова, **О. В. Ермакова**, Н. Б. Орлов, А. Н. Трунов // Национальный журнал глаукома. — 2018. — Т.17., № 2. — С. 3–10. (Из списка ВАК)
3. Черных В. В. Особенности содержания провоспалительных цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях при первичной открытоугольной глаукоме / В. В. Черных, **О. В. Ермакова**, Н. Б. Орлов, О. О. Обухова, О. М. Горбенко, А. П. Шваюк, А. В. Еремина, А. Н. Трунов // Сибирский научный медицинский журнал. — 2018. — Т. 38, № 5. — С. 5–10. (Из списка ВАК)
4. Черных В. В. Особенности содержания цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой / В. В. Черных, В. И. Коненков, **О. В. Ермакова**, Н. Б. Орлов, О. О. Обухова, А. В. Еремина, А. Н. Трунов // Бюллетень сибирской медицины. — 2019. — Т. 18, № 1. — С. 257–265. (Из списка ВАК)
5. **Ермакова О. В.** Дисбаланс содержания цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме / **О. В. Ермакова**, Н. Б. Орлов, А. Н. Трунов, В. И. Коненков, В. В. Черных // Российский иммунологический журнал. — 2019. — Т. 13, № 2. — С. 769–771. (Из списка ВАК)
6. **Ермакова О. В.** Нарушения цитокиновой регуляции в механизмах развития первичной открытоугольной глаукомы / **О. В. Ермакова**, В. В. Черных, В. И. Коненков, Н. Б. Орлов, А. П. Шваюк, О. М. Горбенко, О. О. Обухова, А. В. Еремина, А. Н. Трунов // Современные технологии в офтальмологии. — 2019. — № 3. — С. 40–42.
7. Черных В. В. Особенности содержания трансформирующих факторов роста –бета 1, 2, 3 (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3) во внутриглазной жидкости при первичной открытоугольной глаукоме / В. В. Черных, В. И. Коненков, Н. Б. Орлов, **О. В. Ермакова**, Н. С. Ходжаев, А. Н. Трунов // Офтальмохирургия. — 2019. — № 2. — С. 14–17.

### Список используемых сокращений

ВГД — внутриглазное давление;

### Список используемых сокращений

ВГД — внутриглазное давление;

ВГЖ — внутриглазная жидкость;

Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор;

ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор;

ИЛ-1  $\beta$  — интерлейкин-1  $\beta$ ;

ИЛ-10 — интерлейкин-10;

ИЛ-12 — интерлейкин-12;

ИЛ-13 — интерлейкин-13;

ИЛ-17 — интерлейкин-17;

ИЛ-2 — интерлейкин-2;

ИЛ-4 — интерлейкин-4;

ИЛ-5 — интерлейкин-5;

ИЛ-6 — интерлейкин-6;

ИЛ-7 — интерлейкин-7

ИЛ-8 — интерлейкин-8;

ИФА — иммуноферментный анализ;

ИФН  $\gamma$  — интерферон- $\gamma$ ;

ПОУГ — первичная открытоугольная глаукома;

СЖ — слёзная жидкость;

ФНО- $\alpha$  — фактор некроза опухолей – альфа;

МСР-1 — моноцитарный хемотаксический белок – 1;

МР-1 $\beta$  — макрофагальный воспалительный протеин – 1 $\beta$ ;

TGF- $\beta$  — трансформирующий фактор роста –  $\beta$ ;

TGF- $\beta$ 1 — трансформирующий фактор роста –  $\beta$ 1;

TGF- $\beta$ 2 — трансформирующий фактор роста –  $\beta$ 2;

TGF- $\beta$ 3 — трансформирующий фактор роста –  $\beta$ 3.

Соискатель

О. В. Ермакова