

## Некоторые особенности иммунобиохимических нарушений в патогенезе псевдоэксфолиативного синдрома

Е.В. Егорова<sup>1</sup>, А.В. Бетке<sup>1</sup>, О.М. Горбенко<sup>2</sup>, А.П. Шваюк<sup>2</sup>, А.Н. Трунов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России;

<sup>2</sup> ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН»

### РЕФЕРАТ

**Цель.** Изучить особенности содержания трансформирующего фактора роста-β1 (TGF-β1), матриксной металлопротеиназы 9 (MMP-9) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в слезной жидкости пациентов с катарактой на фоне псевдоэксфолиативного синдрома.

**Материал и методы.** Изучалась слезная жидкость 71 пациента (71 глаз) в возрасте от 50 до 92 лет (76±0,91) с катарактой на фоне псевдоэксфолиативного синдрома (ПЭС). Проведено определение концентраций ИЛ-6, TGF-β1 и MMP-9 методом иммуноферментного анализа.

**Результаты.** Установлено достоверное повышение концентраций ИЛ-6, TGF-β1 и MMP-9 в слезной жидкости пациентов с ПЭС.

**Заключение.** В патогенезе псевдоэксфолиативного синдрома значимую роль играет повышение концентраций ИЛ-6 и MMP-9, биологически активных субстанций, участвующих в развитии «субклинического» воспалительного процесса и способных разрушать белки внеклеточного матрикса, активировать процессы деструкции, пролиферации. Значимым представляется повышение в слезной жидкости концентраций TGF-β1, цитокина, обладающего выраженной пролиферативной и противовоспалительной активностью, так как его способность активировать процессы фиброза может являться одним из патогенетических факторов в образовании псевдоэксфолиативного материала.

**Ключевые слова:** псевдоэксфолиативный синдром, слезная жидкость, трансформирующие факторы роста, матриксные металлопротеиназы, цитокины. ■

Офтальмохирургия. – 2013. – № 4. – С. 12-15.

### ABSTRACT

## Some peculiarities of immunobiochemical disorders in pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome

E.V. Egorova<sup>1</sup>, A.V. Betke<sup>1</sup>, O.M. Gorbenko<sup>2</sup>, A.P. Shvayuk<sup>2</sup>, A.N. Trunov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> The Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk;

<sup>2</sup> The Research Center of Clinical and Experimental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences

**Purpose.** To measure concentrations of transforming growth factor-β1 (TGF-β1), matrix-metalloproteinase-9 (MMP-9) and interleukin-6 (IL-6) in the lacrima of cataract patients with pseudoexfoliation syndrome (PEX).

**Material and methods.** Determination of the concentrations of IL-6, TGF-β1 and MMP-9 in lacrima was performed by the immune-enzyme analysis method in 71 cataract patients (71 eyes) with pseudoexfoliation syndrome (PEX) aged from 50 to 92 years (76±0.91).

**Results.** It was found a significant increase of the concentrations of IL-6, TGF-β1 and MMP-9 in lacrima of patients with PEX.

**Conclusions.** Increase of IL-6 and MMP-9 level may play an important role in the PEX pathogenesis. These cytokines are involved in the development of «subclinical» inflammatory process and activate the processes of destruction and proliferation. TGF-β1 has significant proliferative and anti-inflammatory activity. Increase of TGF-β1 level activates the processes of fibrosis and may be one of the pathogenetic factors in the formation of pseudoexfoliation material.

**Key words:** pseudoexfoliation syndrome, tear, transforming growth factors, matrix metalloproteinases, cytokines. ■

Ophthalmosurgery. – 2013. – No. 4. – P. 12-15.

В настоящее время многими авторами псевдоэкзофалиативный синдром (ПЭС) рассматривается как широко распространенный, возраст-ассоциированный системный патологический процесс, связанный с метаболическими нарушениями в организме и, в частности, в соединительной ткани, сопровождающийся выраженными офтальмологическими проявлениями, которые характеризуются отложением экстрацеллюлярных микрофибриллярных конгломератов на поверхности многих структур органа зрения, преимущественно его переднего сегмента [1, 4, 8, 9, 14, 15].

Известно, что ПЭС является значимым фактором риска возникновения и утяжеляющей причиной развития многих офтальмологических заболеваний, таких как глаукома, катаракта и ряд других [2, 6, 7].

Несмотря на почти столетнюю историю изучения ПЭС, в современной офтальмологии отсутствует единая теория этиологии и патогенеза ПЭС. Считается, что значимую роль в возникновении ПЭС играет генетическая предрасположенность [13].

В научной литературе существует ряд концепций возникновения и развития ПЭС, однако наиболее распространенной и доказанной является теория эластоза и патологии базальных мембран, основанная на постулате о нарушении синтеза и сборки межклеточного матрикса, приводящего к изменению морфофункциональных свойств соединительной ткани, образованию и депонированию аномального экстра-

целлюлярного микрофибриллярного материала, ультраструктурное изучение которого позволило установить, что он представляет из себя комплекс микрофибрилл и аморфного материала, содержащий компоненты базальных мембран, эластин, тропоэластин, амилоид Р, гликозилированные гликопротеины и протеогликаны, ферменты, участвующие в функционировании внеклеточного матрикса, и др. [5-7, 15, 16].

Полученные данные не только расширили современные представления о механизмах развития ПЭС, но и показали необходимость дальнейшего углубленного изучения его патогенеза и, особенно, роли в нем нарушений синтеза и баланса медиаторов межклеточных взаимоотношений – цитокинов, факторов роста, матричных металлопротеиназ, нейротрофических факторов и др. В последние годы появились первые научные публикации, посвященные изучению роли иммунобиохимических нарушений в механизмах развития ПЭС, однако представленные в них данные остаются дискуссионными и требуют дальнейшего углубленного изучения, что позволило определить цель настоящего исследования [11, 12, 19, 20].

### ЦЕЛЬ

Изучить особенности содержания трансформирующего фактора роста- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в слезной жидкости пациентов с псевдоэкзофалиативным синдромом.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен анализ слезной жидкости 71 пациента (71 глаз) в возрасте от 50 до 92 лет ( $76 \pm 0,91$ ), обратившихся для хирургического лечения осложненной катаракты на фоне псевдоэкзофалиативного синдрома. Любая другая сопутствующая офтальмопатология являлась критерием исключения из группы исследования.

Всем пациентам проводилось стандартное предоперационное диагностическое обследование, в рамках которого дополнительно исследовали слезную жидкость. Было получено информированное согласие пациентов на использование данных обследования в научных целях и согласие этического комитета на проведение исследования.

В качестве биологического субстрата для исследования была выбрана слеза – неинвазивно доступная биологическая жидкость, омывающая орган зрения и способная, в определенной степени, отражать иммунобиохимические изменения, происходящие в структурах глаза [10]. Забор слезной жидкости проводили из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку в количестве 0,3-0,4 мл.

В качестве нормативных значений тестируемых показателей были взяты результаты обследования 15 «практически здоровых» лиц аналогичного возраста без офтальмологической патологии и без признаков ПЭС.

Определение в слезной жидкости концентраций TGF- $\beta 1$  – цитокина, обладающего выраженной пролиферативной и противовоспалительной активностью, выполнялось ме-

#### Для корреспонденции:

Егорова Елена Владиленовна, канд. мед. наук, зам. директора по лечебной работе;

Бетке Андрей Владимирович, врач-офтальмолог;

Трунов Александр Николаевич, докт. мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, руководитель лаборатории иммунологии ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН»

Новосибирский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Адрес: 630071, Новосибирск, ул. Колхидская, 10

Тел.: (383) 342-8657. E-mail: egorova@mntk.nsk.ru

Горбенко Ольга Михайловна, канд. биол. наук, ст. научн. сотрудник;

Шваюк Аля Петровна, канд. биол. наук, ст. научн. сотрудник

ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН»

Адрес: 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Тел.: (383) 2165-4999

тодом иммуноферментного анализа на коммерческих тест-системах DRG-diagnostics (Германия) по инструкции производителя. Определение в слезной жидкости ММР-9 – представителя семейства внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать белки внеклеточного матрикса и участвующих в процессах пролиферации, апоптозе, регуляции синтеза цитокинов, выполнялось методом иммуноферментного анализа на коммерческих тест-системах CUSABIO (КНР) по инструкции производителя. Определение в слезной жидкости концентраций ИЛ-6 – провоспалительного цитокина, участвующего в развитии хронического воспаления, способного индуцировать синтез TGF- $\beta$ 1 и др., выполнялось на коммерческих тест-системах ООО «Цитокин» (Россия) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм.

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде графиков. Использовались методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем вероятности 95% ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследуемой группе пациентов острота зрения была от правильной светопроекции до 0,6 с коррекцией, длина переднезадней оси глаза соста-

вила от 21,25 до 25,53 мм, рефракция роговицы –  $43,5 \pm 0,5$  дптр, внутриглазное давление –  $13,5 \pm 2,1$  мм рт.ст. Выраженность атрофических изменений радужки и характер отложений псевдоэксфолиативного материала соответствовали 2-3 степени ПЭС (по классификации Ерошевской Е.Б., 1997). При УБМ-исследовании практически во всех случаях была отмечена несостоятельность связочно-капсульного аппарата хрусталика 2-4 стадии (по классификации Егоровой Э.В. с соавт., 2004) [3]. При биомикроскопии в щелевой лампе в 7 случаях (9,86%) был отмечен иридо- и факодонез, плотность ядра была 2-4 степени (по классификации Buratto L., 1999).

В результате исследования слезной жидкости пациентов обследованных групп были получены следующие данные. Концентрация TGF- $\beta$ 1 в слезной жидкости обследованных лиц, входивших в контрольную группу, составила  $327,5 \pm 19,4$  пг/мл. Содержание изучаемого цитокина в слезной жидкости пациентов с ПЭС составило  $439,5 \pm 30,6$  пг/мл, что было в 1,34 раза выше значений данного показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). Графически результаты представлены на рис. 1.

Аналогичные результаты были получены и при изучении содержания в слезе ММР-9. Концентрация ММР-9 в слезной жидкости в контрольной группе составила  $0,5 \pm 0,07$  нг/мл, а в группе пациентов с ПЭС –  $1,35 \pm 0,16$  нг/мл, что было в 2,7 раза выше значений показателя у пациентов контрольной группы и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). Графически результаты представлены на рис. 2.

Концентрация ИЛ-6 в слезной жидкости обследованных лиц, входив-

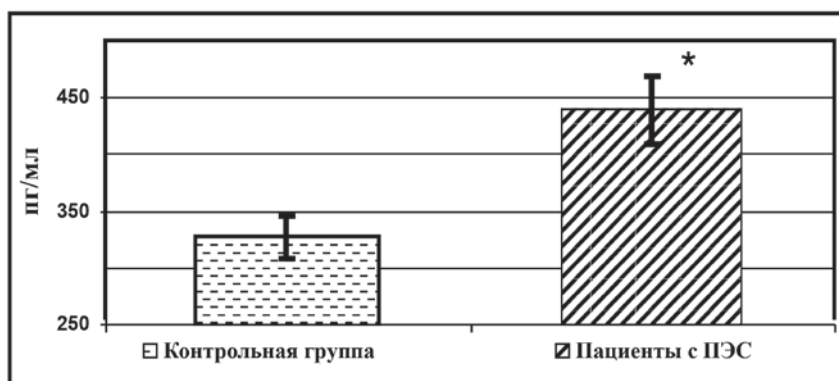
ших в контрольную группу, составила  $9,2 \pm 2,1$  пг/мл. Содержание изучаемого цитокина в слезной жидкости пациентов с ПЭС составило  $23,6 \pm 4,8$  пг/мл, что было в 2,5 раза выше значений показателя у пациентов контрольной группы и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). Графически результаты представлены на рис. 3.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных данных позволяет сделать заключение о том, что в механизмах развития псевдоэксфолиативного синдрома значимую роль играет повышение концентраций биологически активных субстанций, участвующих в развитии «субклинического» воспалительного процесса и способных разрушать белки внеклеточного матрикса, активировать процессы деструкции, пролиферации, увеличивать проницаемость сосудистой стенки. Это подтверждается выявленным достоверным повышением концентраций ИЛ-6 и ММР-9, обладающих этими свойствами, в слезной жидкости пациентов с ПЭС.

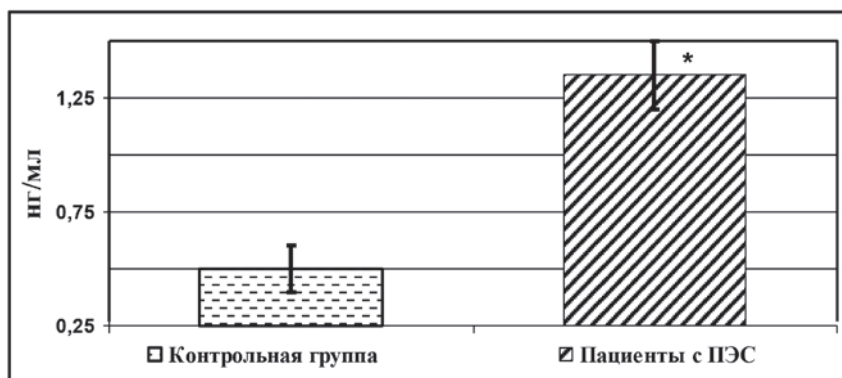
Значимым представляется установленное в исследовании повышение в слезной жидкости обследованных пациентов концентраций TGF- $\beta$ 1, цитокина, обладающего выраженной пролиферативной и противовоспалительной активностью. Известно, что к активации его синтеза способны приводить повышенные концентрации многих провоспалительных цитокинов и матричных металлопротеиназ, в том числе ИЛ-6 и ММР-9. Его повышение на начальных этапах изучаемого патологического процесса, вероятно, носит компенсаторный характер в ответ на развитие воспалительного процесса и деструкцию внеклеточного матрикса, однако его способность активировать процессы фиброза является одним из патогенетически значимых факторов в образовании псевдоэксфолиативного материала.

В пользу представленного заключения свидетельствуют и данные научных исследований последних лет, посвященных изучению патогенеза ПЭС, которые подтверждают выводы настоящего исследования [11, 18, 19]. Важным представляется и тот факт, что повышенная выработка TGF- $\beta$



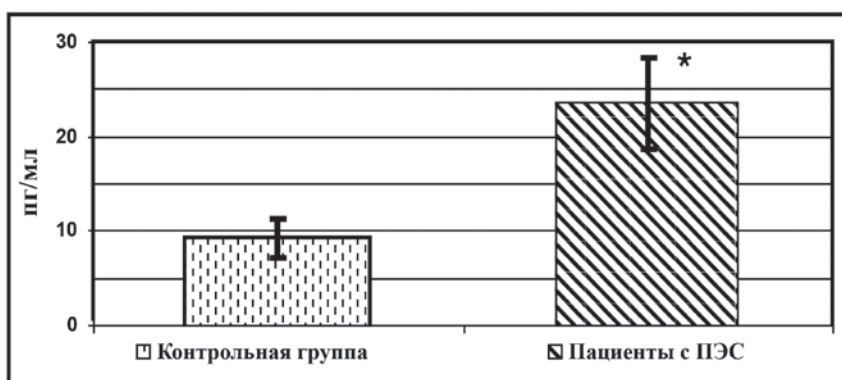
\*- достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе сравнения ( $p < 0,05$ ).

Рис. 1. Концентрация TGF- $\beta$ 1 в слезной жидкости пациентов с ПЭС и контрольной группе



\*- достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе (p<0,05).

Рис 2. Концентрация ММР-9 в слезной жидкости пациентов с ПЭС и контрольной группе



\*- достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе сравнения (p<0,05).

Рис 3. Концентрация ИЛ-6 в слезной жидкости пациентов с ПЭС и контрольной группе

при ПЭС, связываемая рядом авторов с высоким уровнем содержания провоспалительных цитокинов и матричных металлопротеиназ [16, 17], приводит к активации синтеза фибронектина и фибротическим изменениям тканей глаза, что позволяет рассматривать этот механизм как один из факторов, обуславливающий возникновение и более быстрое развитие глаукоматозного процесса у пациентов с ПЭС.

данном ультразвуковой биомикроскопии в сравнительном аспекте с клинико-функциональными методами исследования // Новые технологии микрохирургии глаза: Российская науч.-практ. конф.: Сб. науч. трудов.– Оренбург, 2004.– С. 197-200.

4. Егорова Э.В., Файзилова У.С., Морозова Т.А. и др. Анатомо-топографические особенности переднего сегмента артифактного глаза на фоне псевдоэкзофолиативного синдрома по данным ультразвуковой биомикроскопии // Офтальмохирургия.– 2011, № 1.– С. 53-58.

5. Ерошевская Е.Б. Интраокулярная коррекция афакии у больных первичной открытоугольной глаукомой: Дис. ... д-ра мед. наук.– Самара, 1997.– 240 с.

6. Керимова Р.С. Симптомокомплекс ранних глазных проявлений псевдоэкзофолиативного синдрома (клинико-экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– М., 2011.– 24 с.

7. Курьшева Н.И. Псевдоэкзофолиативный синдром и псевдоэкзофолиативная глаукома: Учебно-метод. пособие.– М., 2008.– 62 с.

8. Михина И.В., Фабрикантов О.Л. Современные аспекты псевдоэкзофолиативного синдрома // Практ. медицина.– 2012.– Т. 2, № 59.– С. 229-232.

9. Тахчиди Х.П., Баринев Э.Ф., Агафонова В.В. и др. Патология глаза при псевдоэкзофолиативном синдроме.– М.: Офтальмология, 2010.– 156 с.

10. Юрьева Т.Н. Закономерности и механизмы формирования билатерального псевдоэкзофолиативного синдрома // Офтальмология.– 2011.– № 2.– С. 74-80.

11. Черных В.В., Смирнов Е.В., Горбенко О.М. и др. Особенности локального воспалительного процесса при отслойке сетчатки // Бюллетень СО РАМН.– 2009.– № 4.– С. 89-92

12. Черных В.В., Егорова Е.В., Ермакова О.В. и др. О возможной роли иммунных нарушений в патогенезе псевдоэкзофолиативного синдрома // Бюллетень СО РАМН.– 2009.– № 4.– С. 131-135.

13. Buratto L. Хирургия катаракты. Переход от экстракапсулярной экстракции катаракты к факэмульсификации.– Fabriano Editore, 1999.– 474 p.

14. Djordjević-Jocić J., Zlatanović G., Veselinović D. et al. Transforming growth factor beta1, matrix-metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor in patients with pseudoexfoliation glaucoma/syndrome // Vojnosanit. Pregl.– 2012.– Vol. 69, № 3.– P. 231-236.

15. Elhawy E., Kamthan G., Dong C.Q., Danias J. Pseudoexfoliation syndrome, a systemic disorder with ocular manifestations // J. Hum. Genomics.– 2012.– № 10.– P. 6-22.

16. Ritch R. Exfoliation syndrome // Curr. Opin. Ophthalmol.– 2001.– Vol. 12, № 2.– P. 124-130.

17. Schlötzer-Schreberdt U. New pathogenetic insights into pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. Therapeutically relevant? // Ophthalmologie.– 2012.– Vol. 109, № 10.– P. 944-951.

18. Schlötzer-Schreberdt U., Naumann G.O. A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome // Am. J. Ophthalmol.– 2004.– Vol. 118.– P. 730-743.

19. Xu S.L., Gao Z.Z., Wang Y., Chen J. Expression of matrix metalloproteinases and inhibitors on the scleral tissue of lamina cribrosa in rat with experimental chronic ocular hypertension // Zhonghua Yan Ke Za Zhi.– 2009.– Vol. 45, № 3.– P. 260-265.

20. Yu A.L., Birke K., Moriniere J., Welge-Lüssen U. TGF-beta2 induces senescence-associated changes in human trabecular meshwork cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.– 2010.– Vol. 51, № 11.– P. 5718-5723.

21. Yıldırım Z., Yıldırım F., Uçgun N.I., Sepici-Dinçel A. The role of the cytokines in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome // Int. J. Ophthalmol.– 2013.– Vol. 6, № 1.– P. 50-53.

22. Zenkel M., Lewczuk P., Jünemann A. et al. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma // Am. J. Pathol.– 2010.– Vol. 176, № 6.– P. 2868-2879.

Поступила 09.09.2013

## ЛИТЕРАТУРА

1. Брежнев А.Ю., Курьшева Н.И., Трубилин В.Н., Баранов В.И. Проблемы ранней клинической диагностики псевдоэкзофолиативного синдрома // Офтальмология.– 2012.– Т. 9, № 1.– С. 49-52.

2. Бессмертный А.М., Киселева О.А., Фатуллоева Н.Ф. Некоторые аспекты клинического течения псевдоэкзофолиативной глаукомы // Клин. офтальмология.– 2008.– № 4.– С. 62-63.

3. Егорова Э.В., Узунян Д.Г., Толчинская А.И. и др. Изучение симптоматики псевдоэкзофолиативного синдрома по