

ЧАСТОТА СДВИГОВ ОТ НОРМЫ В СУБПОПУЛЯЦИОННОМ СОСТАВЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯЗВОЙ РОГОВИЦЫ

Куликова И.Г., Балацкая Н.В., Ковалева Л.А., Макаров П.В.

ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. В статье представлена подробная характеристика сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов крови, ассоциированных с развитием язвенного поражения роговицы, а также при проведении сквозной кератопластики.

Выявлены общие изменения, характерные для пациентов с ЯР и группы СКП, отражающие воспалительную активность: достоверное повышение количества лимфоцитов (CD45⁺), относительного и абсолютного содержания популяции Т-клеток (CD3⁺), субпопуляции CD3⁺CD4⁺, а также В-лимфоцитов (CD19⁺) по сравнению с группой контроля.

Отличительной особенностью группы с СКП явился статистически значимый рост содержания натуральных киллеров CD16⁺CD56⁺.

При анализе средних значений иммунорегуляторного индекса больных с ЯР не обнаружено статистически значимой разницы между исследуемыми клиническими группами. Однако индивидуальное сравнение по характеру и частоте сдвигов CD4⁺/CD8⁺ среди пациентов с «высоким» индексом качественно выделило III группу (ЯР тяжелого течения): тяжелый дисбаланс основных иммунорегуляторных Т-субпопуляций в ней выявлялся в 2,4 раза достоверно чаще, чем в группе пациентов с ЯР легкой степени.

Полученные данные представляются важными для понимания патогенеза ЯР центральной локализации (характера и степени тяжести деструктивных повреждений) и должны приниматься во внимание при прогнозировании, разработке дифференцированного подхода к лечению заболевания.

Ключевые слова: лимфоциты, фенотип, кровь, язвенное поражение роговицы

FREQUENCY OF DEVIATIONS FROM NORMAL VALUES IN THE BLOOD SUBPOPULATIONS' PROFILE IN THE PATIENTS WITH CENTRAL CORNEAL ULCERS

Kulikova I.G., Balatskaya N.V., Kovaleva L.A., Makarov P.V.

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. This article presents a detailed description of shifts in subsets of blood lymphocyte subpopulations associated with development of the corneal ulcerative lesions as well as during penetrating keratoplasty.

Адрес для переписки:

Куликова Ирина Геннадьевна
ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт
глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства
здравоохранения РФ
105062, Россия, Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19.
Тел.: 8 (926) 386-40-29.
E-mail: ig-kulikova@yandex.ru

Address for correspondence:

Kulikova Irina G.
Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-
Chernogryazskaya str., 14/19.
Phone: 7 (926) 386-40-29.
E-mail: ig-kulikova@yandex.ru

Образец цитирования:

И.Г. Куликова, Н.В. Балацкая, Л.А. Ковалева,
П.В. Макаров «Частота сдвигов от нормы
в субпопуляционном составе крови у пациентов
с центральной язвой роговицы» // Медицинская
иммунология, 2018. Т. 20, № 2. С. 263-270.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-263-270

© Куликова И.Г. и соавт., 2018

For citation:

I.G. Kulikova, N.V. Balatskaya, L.A. Kovaleva, P.V. Makarov
“Frequency of deviations from normal values in the blood
subpopulations' profile in the patients with central corneal
ulcers”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 2, pp. 263-270.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-263-270

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-263-270

We have revealed some general changes typical for patients with corneal ulcer and patients with keratoplasty, reflecting inflammatory activity, i.e., a significant increase in the numbers of lymphocytes (CD45⁺), relative and absolute contents of the T-cell population (CD3⁺), CD3⁺ CD4⁺ subpopulation, and B-lymphocytes (CD19⁺), as compared with the control group. A statistically significant increase in natural killer cells (CD16⁺CD56⁺) proved to be a distinctive feature of the group with keratoplasty.

When analyzing mean values of CD4⁺/CD8⁺ cells from the patients with corneal ulcer, there was no statistically significant difference between the clinical groups studied. However, individual comparison of nature and frequency of CD4⁺/CD8⁺ shifts among the patients with «high» index allowed qualitative separation of the third group (severe corneal ulcer): a severe imbalance of main T-cell subpopulations was detected 2.4 times significantly more often than in the group of patients with mild forms of corneal ulcers.

The obtained data are important for understanding pathogenesis of centrally localized corneal ulcer, and should be taken into account when predicting and developing a differentiated approach to the treatment of the disease.

Keywords: lymphocytes, phenotype, blood, corneal ulcer (helcoma)

Введение

Язвы роговицы (ЯР) — тяжелое заболевание глаза, характеризующееся поражением глубоких слоев роговой оболочки (глубже боуменовой мембраны в область стромы, нередко с захватом десцеметовой оболочки, слоя эндотелиальных клеток) вследствие обширного экссудативно-деструктивного воспаления, наличием язвенных образований, лейкоцитарного инфильтрата [4, 8]. ЯР являются одной из причин значительного снижения остроты зрения и слепоты, составляющей в развитых странах от 6,3 до 30%. Известно, что они могут приводить к эндофтальмиту, перфорации роговицы и потере глаза [7, 16]. Деструктивный процесс при ЯР может затрагивать любую часть роговой оболочки, но чаще локализуется в центральной (оптической) зоне (по архивным данным отдела инфекционных и аллергических заболеваний глаз — более чем в 70% случаев), где воспаление протекает тяжело, трудно поддается лечению, а рубцевание в этой области всегда приводит к образованию интенсивного помутнения — бельма, значительно снижающего зрительные функции. Тяжелые ЯР требуют кардинального вмешательства, как правило, оперативного — выполнения кератопластики ([КП] — трансплантации роговицы) [8]. Среди факторов, способствующих развитию заболевания, выделяют два основных — инфекционный фактор и снижение местной (в том числе ослабление поверхностной защиты глаза; нарушение целостности эпителия роговицы) резистентности [4]. Несмотря на успехи и достижения современной медицины, прогноз и лечение центральных ЯР на сегодняшний день представляет большие трудности.

В первую очередь это определяется неполно исследованным патогенезом заболевания, в частности недостаточными и противоречивыми сведениями о вкладе иммунологических факторов (как локальных, так и системных) в развитие язвенных поражений центральной области роговицы.

Считают, что истинно иммунную природу (нарушения аутоиммунной регуляции) имеют краевые кератиты и ЯР (например, язва Мурена) [11].

Вместе с этим, по нашим предварительным данным, системный клеточный ответ на антигены тканей глаза (роговицы и/или хрусталика, увеа, сетчатки) выявляется почти в трети случаев при центральной инфекционной ЯР и коррелирует с ее тяжестью [3].

Эти наблюдения предполагают определенный вклад аутоиммунного компонента в воспалительную деструкцию при центральных ЯР, позволяют рассматривать органоспецифическую сенсибилизацию как серьезный фактор риска развития прогрессирования и осложнения течения заболевания. Известно, что активации и развитию иммунного ответа на антигены собственных тканей могут способствовать разнообразные нарушения в функционировании иммунной системы организма, в том числе в субпопуляционном составе лимфоцитов [9].

Однако данный вопрос при развитии ЯР центральной локализации, разных клинических вариантах течения заболевания остается практически неизученным.

Цель: анализ содержания основных субпопуляций лимфоцитов в крови больных с центральной ЯР в зависимости от степени тяжести течения заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 192 пациента в возрасте от 18 до 85 лет (76 женщин и 116 мужчин) с ЯР центральной локализации. Основанием для этиологической диагностики ЯР служили данные анамнеза, клинические признаки, выявленные при биомикроскопии, и лабораторные методы исследования. На основании разработанных в отделе инфекционных и аллергических заболеваний глаз ФГБУ «МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава РФ [2] критериев оценки степени тяжести течения ЯР, были сформированы 4 группы больных: I-я — ЯР легкой степени тяжести (с инфильтратами до 3 мм в диаметре,

площадь изъязвления до 1/4 площади роговицы и глубиной изъязвления не более 1/3 толщины стромы роговицы) – 21 пациент, II-я группа – средняя степень тяжести заболевания (с инфильтратами от 3 до 5 мм в диаметре, изъязвлением от 1/4 до 1/2 площади роговицы и глубиной не более 2/3 толщины стромы роговицы) – 81 человек; у 55 пациентов, составивших III-ю группу, ЯР относились к тяжелой степени (с инфильтратами более 5 мм в диаметре, изъязвлением более 1/2 площади роговицы и глубиной до десцеметовой оболочки). В IV-ю группу вошли 35 больных с тяжелой ЯР и оперативным вмешательством – пересадкой роговицы (сквозная кератопластика [СКП]), из них 18 пациентам выполнялась повторная СКП. Контрольную группу составили 33 практически здоровых донора соответствующего возраста и пола.

Материалом исследования служили пробы цельной крови, взятой из локтевой вены натощак в утренние часы (с 9.00-10.00 ч) при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом К3ЕДТА. Иммунофенотипирование проведено методом лазерной цитофлуориметрии на проточном цитометре BD FACS Canto II (BectonDickinson, США) с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD Tru Count (BectonDickinson, США). Для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов использовался лизирующий раствор BD FACS TM Lysing Solution (BectonDickinson, США). Относительное и абсолютное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов определялось в программе Canto (Becton Dickinson, США), с выделением анализируемого региона по общей популяции, экспрессирующей CD45⁺ антиген и по гранулярности клеток (CD45⁺PerCP-Cy5,5*/SSC); использовались меченные флуорохромами антитела CD3⁺(FITC), CD4⁺(PE-Cy7*), CD8⁺(APC-Cy7*), CD16⁺/56⁺(PE), CD19⁺(APC*), позволяющие дифференцировать клетки: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль-позитивные (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), NK-клетки – натуральные киллеры (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), вычислить соотношение субпопуляций CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺, отражающее баланс Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (CD4⁺/CD8⁺).

Статистическая обработка данных и вариационный анализ выполнены в программах Biostatd, Excel (M – среднее значение, σ – среднее квадратическое отклонение; t – критерий Стьюдента); уровень статистической значимости: p < 0,05.

Результаты и обсуждение

Данные иммунофенотипирования основных субпопуляций лимфоцитов крови больных с цен-

тральной язвой роговицы в сравнении с контролем представлены в таблице 1.

При анализе результатов исследования во всех клинических группах пациентов с ЯР выявлено статистически значимое повышение абсолютного количества лимфоцитов (CD45⁺) по сравнению с группой здоровых, а также достоверный рост общей популяции Т-клеток (относительно и абсолютного содержания).

В I-й группе (ЯР легкой степени течения) среди популяции Т-лимфоцитов было обнаружено статистически значимое увеличение содержания Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), как абсолютного, так и процентного, послужившее причиной значительного повышения CD4⁺/CD8⁺ (p < 0,05). Кроме того, в группе с ЯР легкой степени отмечен достоверный рост абсолютного количества В-лимфоцитов (CD19⁺) по сравнению с таковым в группе здоровых добровольцев без офтальмопатологии. Характерным для I-й группы стало существенное статистически значимое снижение абсолютного и относительного содержания натуральных киллеров (CD16⁺CD56⁺).

При исследовании субпопуляционного состава лимфоцитов крови пациентов с ЯР средней степени тяжести (II группа) выявлено достоверное значительное повышение абсолютного количества общей популяции Т-клеток и их субпопуляции CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов – хелперов, а также В-лимфоцитов (p < 0,05). В этой же группе сохранялась тенденция к снижению абсолютного и относительного содержания NK (CD16⁺CD56⁺).

Отличительной особенностью II группы (ЯР средней тяжести течения) явилось статистически значимое повышение абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺) по сравнению с группой здоровых доноров без офтальмопатологии.

Деструктивный процесс глубоких слоев роговой оболочки и развитие осложнений при ЯР тяжелого течения (III-я группа) сопровождались дальнейшими значительными сдвигами в субпопуляционном составе лимфоцитов крови с тенденцией к повышению индекса CD4⁺/CD8⁺: направление динамики относительного и абсолютного содержания иммунокомпетентных клеток в целом было аналогичным таковому в I и II группах. Характерным для III-й группы (ЯР тяжелого течения) больных стало статистически значимое повышение абсолютного количества Т-дубль-позитивных лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺).

Наиболее значительные изменения были выявлены в IV группе больных с СКП: в первую очередь, это существенный рост абсолютного количества лимфоцитов (CD45⁺), Т-лимфоцитов (CD3⁺) и субпопуляции Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), прогрессивное усугубление дисбаланса в системе Т-клеток – значительное повышение

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И БОЛЬНЫХ С ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯЗВОЙ РОГОВИЦЫ (M±σ)

TABLE 1. PHENOTYPIC CONTENTS OF BLOOD LYMPHOCYTES IN HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH CENTRAL CORNEAL ULCERS (M±σ)

Показатель Factors		Контрольная группа Control group (n = 33)	Группы Groups			
			I	II	III	IV
		Степень тяжести ЯР Severity of central corneal ulcers				
		легкая mild (n = 21)	средняя medium (n = 81)	тяжелая severe (n = 55)	СКП keratoplasty (n = 35)	
Лимфоциты CD45 ⁺ Lymphocytes CD45 ⁺	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	2,06±0,11	2,4±0,16	2,63±0,1*	2,49±0,13*	2,79±0,24*
Т-лимфоциты об- щая популяция CD3 ⁺ T lymphocytes (total population) CD3 ⁺	%	73,1±0,87	76,5±1,28*	75,11±0,78	75,24±0,84	70,39±1,29
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	1,51±0,08	1,85±0,14*	1,97±0,07*	1,88±0,1*	1,99±0,04*
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺ T helpers CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	45,7±1,19	51,4±1,57*	48,7±0,78	50,3±0,07*	47,09±1,28
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,97±0,06	1,27±0,11*	1,28±0,05*	1,24±0,07*	1,3±0,11*
Т-цитотоксические CD3 ⁺ CD8 ⁺ T cytotoxic CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	25,6±1,04	22,8±1,21	24,5±0,82	23,4±0,84	21,69±1,14
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,52±0,03	0,57±0,044	0,65±0,03*	0,58±0,04	0,67±0,08
Т-«дубль-позитив- ные» лимфоциты CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ «double-positive» lymphocytes CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	%	0,54±0,31	1,02±0,22	0,7±0,06	0,8±0,07	0,92±0,19
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,009±0,007	0,025±0,006	0,018±0,002	0,02±0,002*	0,027±0,005*
В-лимфоциты CD19 ⁺ B lymphocytes CD19 ⁺	%	12,8±0,63	14,4±0,802	14,9±0,62	15,06±0,69 *	13,9±1,02
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,24±0,02	0,34±0,03*	0,41±0,03*	0,39±0,03*	0,39±0,05*
Натуральные кил- леры CD16 ⁺ CD56 ⁺ Natural killers CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	14±0,87	8,6±1,01**	9,5±0,51**	9,12±0,69**	14,7±1,08
	× 10 ⁹ /л × 10 ⁹ /l	0,29±0,03	0,19±0,02**	0,23±0,01**	0,21±0,01**	0,37±0,03
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	рассч.ед. conventional unit	1,95±0,12	2,47±0,18*	2,45±0,22	2,8±0,32	2,6±0,19*

Примечание. n – количество обследуемых в группе; * – достоверность различия параметров у больных исследуемых групп по сравнению с группой контроля (p < 0,05); # – достоверность различия параметров у больных исследуемых групп по сравнению с группой после пересадки роговицы (p < 0,05).

Note. n, number of experimental subjects in the group; *, the differences in study group in comparison with control are significant by p < 0.05; # – the differences in study group in comparison with the group after corneal transplantation are significant by p < 0.05.

CD4⁺/CD8⁺. Содержание двойных позитивных Т-клеток (CD3⁺CD4⁺CD8⁺) статистически значимо в три раза превышало таковое в контрольной группе здоровых.

Отличительной особенностью IV группы было достоверное значительное повышение абсолютного и процентного количества NK-клеток в крови пациентов, перенесших СКП, по сравнению с остальными клиническими группами.

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ частоты случаев выявления характерных сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов и повышения CD4⁺/CD8⁺ у пациентов исследуемых клинических групп (рис. 1).

В 27% случаев при ЯР легкой степени отмечено повышение содержания лимфоцитов (CD45⁺), в 23% — рост основной популяции Т-клеток (CD3⁺) и Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), у трети обследованных больных этой группы высокие значения CD4⁺/CD8⁺ и повышение количества Т-дубль-позитивных лимфоцитов CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (31% случаев) (рис. 1А)

ЯР средней степени течения (II группа) характеризовались дальнейшим увеличением частоты случаев повышения содержания лимфоцитов (CD45⁺) (35%), цитотоксических Т-клеток (CD3⁺CD8⁺) (у 35% больных II-й группы против 15% I-й; $p < 0,05$), а также В-лимфоцитов (с 8% случаев в I-й группе до 22% во II-й). В этой же группе более чем в 2 раза возрастало количество пациентов (с 5% в группе с ЯР легкой степени течения до 11% во II группе) со значительным снижением содержания в крови NK-лимфоцитов (CD16⁺CD56⁺). Повышенные значения CD4⁺/CD8⁺ встречались у 30% пациентов (рис. 1Б).

Динамика случаев сдвигов показателей клеточного иммунного статуса, описанная во II-й группе больных, в целом сохранялась при ЯР тяжелой степени, за исключением Т-дубль-позитивных лимфоцитов CD3⁺CD4⁺CD8⁺, повышенное содержание этой субпопуляции отмечено в крови 37% пациентов с тяжелыми язвенными поражениями роговицы (рис. 1В).

В IV группе больных (СКП) повышение CD4⁺/CD8⁺ выявлено уже практически в половине случаев. Следует отметить, что только в группе пациентов с СКП (у 13 % больных) встретились случаи повышения количества NK-лимфоцитов (CD16⁺CD56⁺), не обнаруженные более ни в одной из клинических групп (рис. 1Г).

Таким образом, как при общем, так и при дифференцированном анализе данных были выявлены нарушения в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови пациентов с ЯР различной степени тяжести течения заболевания, а также в группе с СКП; при этом изменение клинической картины (от ЯР легкой степени к усилению деструктивного процесса с развитием осложнений) ассоциировалось с нарастанием

частоты случаев характерных иммунологических сдвигов (рис. 1).

В целом во всех клинических группах пациентов, страдавших ЯР, по сравнению с группой здоровых, имело место статистически значимое повышение общего содержания лимфоцитов, абсолютного количества общей популяции Т-лимфоцитов (CD3⁺), отражающее воспалительную активность, наиболее выраженную в группах с ЯР средней степени тяжести и СКП, что согласуется с данными литературы, отмечающими активацию лимфоцитарного звена при инфекционной нагрузке, а также в условиях трансплантации.

Увеличение абсолютного количества популяции Т-хелперов, послужившего причиной достоверного повышения CD4⁺/CD8⁺ у трети больных с ЯР различной степени тяжести и практически в половине случаев в группе пациентов с СКП (по сравнению с группой здоровых доноров) свидетельствует о развитии дисбаланса субпопуляций Т-клеток у этой части пациентов.

Известно, что доминирование популяции CD3⁺CD4⁺ способствует развитию иммунного ответа, в том числе и на аутоантигены. Прямая взаимосвязь повышения CD4⁺/CD8⁺ и активации системного клеточного ответа на антигены тканей глаза была показана в работах при воспалительной офтальмопатологии [6].

Сравнительный анализ средних значений CD4⁺/CD8⁺ пациентов с ЯР не выявил статистически значимой разницы между исследуемыми клиническими группами. Однако индивидуальный сравнительный анализ по характеру и частоте индекса среди пациентов с высоким CD4⁺/CD8⁺ между клиническими группами качественно выделил III-ю группу (ЯР тяжелого течения) и показал в ней достоверное, в 2,4 раза чаще выявляемое значительное повышение CD4⁺/CD8⁺ (от 4,0 до 8,5), чем в группе пациентов с ЯР легкой степени (табл. 2).

Известно, что наряду с основными, достаточно хорошо изученными субпопуляциями (CD3⁺CD4⁺CD8⁺ и CD3⁺CD4⁺CD8⁺) в крови человека, могут обнаруживаться дубль-позитивные Т-клетки, характеризующиеся как лимфоциты с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD8⁺. К настоящему времени установлено, что дубль-позитивные Т-лимфоциты являются высокодифференцированными клетками памяти [15].

Накоплено достаточное количество данных, рассматривающих CD3⁺CD4⁺CD8⁺ как возможный показатель развития аутоиммунных процессов, но единого мнения по этому вопросу не достигнуто [9].

Отмеченное нами повышение содержания дубль-позитивных Т-клеток у всех больных и особенно их абсолютного количества при тяжелом течении (III-я группа) ЯР и группе с СКП, согласуется с данными Parel Y. и соавт. (2007),

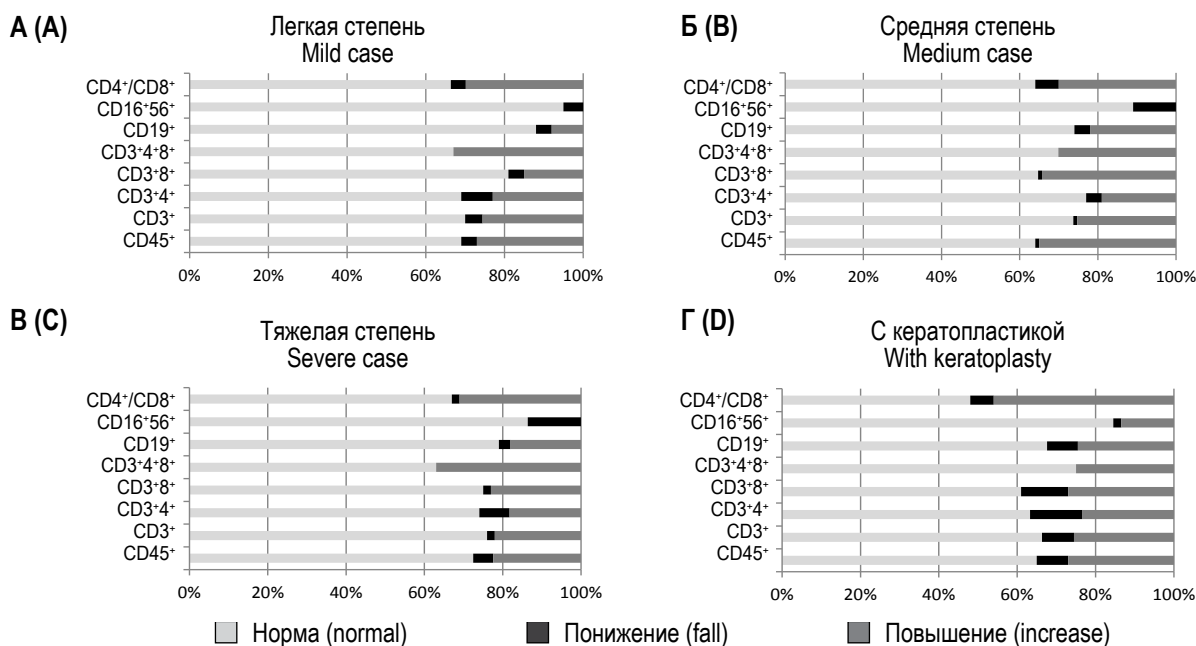


Рисунок 1. Частота сдвигов от нормы в субпопуляционном составе крови у пациентов с центральной язвой роговицы

Примечание. По оси абсцисс – частота сдвигов (относительные значения); по оси ординат – абсолютное количество субпопуляций.

Figure 1. Frequency of deviations from normal values in the blood subpopulations' profile in the patients with central corneal ulcers
Note. Abscissa, frequency of abnormal shifts (relative content); Ordinate, absolute number of a subpopulation.

Armengol M.P. и соавт. (2008), И.В. Кудрявцева и соавт. (2014), показавшими увеличение содержания этой минорной субпопуляции у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [5, 10, 17].

Помимо Т-цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$), субпопуляцию $CD3^+CD4^+CD8^+$ клеток рассматривают в аспекте защиты от инфекций. Есть сведения об увеличении $CD4^+CD8^+$ лимфоцитов в периферической крови при инфекционном мононуклеозе, ВИЧ-инфекции и др. Считают, что дубль-позитивные Т-лимфоциты могут иметь большое значение в реакциях адаптивного иммунитета в ответ на различные инфекционные агенты [15]. Увеличение частоты случаев повышения как $CD3^+CD8^+$ (достоверное во II-й группе), так и $CD3^+CD4^+CD8^+$ субпопуляций в крови пациентов с центральной ЯР может служить доказательством иммунного ответа на присутствие инфекционных возбудителей, которое было подтверждено перед лечением у всех больных специальными лабораторными методами (бактериологическими и серологическими при определении этиологии язвенного процесса).

Относительное и абсолютное количество популяции НК в крови больных с ЯР I-III клинической групп было значительно ниже, а В-лимфоцитов – выше нормы. В целом такая динамика характерна при инфекционных заболеваниях, и наши результаты согласуются с данными работ, в частности Алексеевой Л.А. и соавт., продемонстрировавшими накопление $CD19^+$ (В-лимфоцитов) в системном кровотоке

и активную миграцию $CD16^+CD56^+$ лимфоцитов (НК-клеток) в очаг воспаления при вирусных и бактериальных менингитах, Liu F. и соавт., обнаружившими снижение популяции циркулирующих натуральных киллеров и ослабление их функциональной активности при вирусном гепатите В [1, 12].

Подобную динамику для НК-клеток (миграцию из системного кровотока и вторичных лимфоидных органов на периферию в очаг воспаления) описали Liu Q. и соавт. при экспериментальной травме роговицы у мышей [13].

Относительное содержание натуральных киллеров в крови пациентов группы с СКП было достоверно выше, чем в основных группах с ЯР, помимо этого, абсолютное количество этой субпопуляции превышало таковое в группе здоровых доноров. Следует отметить, что IV-я группа отличалась от остальных клинических групп: ее составили пациенты с наиболее тяжелыми поражениями роговицы, которым была выполнена кератопластика, при этом практически половине из них – 18 больным – поведены повторные трансплантации (2 и более раза).

Субпопуляция $CD16^+CD56^+$ лимфоцитов (НК-клеток) в последнее время активно изучается в трансплантологии (в частности в плане отторжения трансплантата). Полученные нами результаты для группы с СКП находят косвенное подтверждение в работах López-Botet M. и соавт., посвященных изучению роли натуральных киллеров в выживании почечных трансплантатов,

ТАБЛИЦА 2. ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХАРАКТЕРА И ЧАСТОТЫ СДВИГОВ CD4⁺/CD8⁺ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКИМИ ЗНАЧЕНИЯМИ CD4⁺/CD8⁺ ИССЛЕДУЕМЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ГРУПП С ЯР (%)

TABLE 2. INDIVIDUAL ANALYSIS OF CHARACTERISTICS AND FREQUENCY OF SHIFTS CD4⁺/CD8⁺ AMONG PATIENTS WITH HIGH CD4⁺/CD8⁺ VALUES IN DISTINCT CLINICAL GROUPS WITH CORNEAL ULCERS (%)

Диапазон повышения CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Range of CD4 ⁺ /CD8 ⁺ increase	Группы Groups			
	I	II	III	IV
	Степень тяжести ЯР Severity of central corneal ulcers			
	легкая mild (n = 8)	средняя medium (n = 28)	тяжелая severe (n = 20)	СКП keratoplasty (n = 24)
незначительное ↑ minor [2,5-3,0]	37,5	35,7	35	42
умеренное ↑↑ moderate [3,0-3,9]	50	46,3	35	37
значительное ↑↑↑ major [4,0-8,5]	12,5	17,8	30*	21

Примечание. n – количество пациентов с повышенными значениями CD4⁺/CD8⁺ в группе; * – достоверность различия частоты повышения CD4⁺/CD8⁺ у больных I-й группы по сравнению с III-й (p < 0,05).

Note. n, number of patients with high values of CD4⁺/CD8⁺ in the group; *, the differences in frequency of CD4⁺/CD8⁺ rise between the first third group are significant by p < 0.05.

а также Schwartzkopff J. и соавт., исследовавших субпопуляцию CD16⁺CD56⁺ при пересадке роговицы в условиях эксперимента [14,18].

Таким образом, в результате проведенных исследований представлена характеристика сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов крови, ассоциированных с развитием язвенных поражений роговицы при легком, среднем и тяжелом

течении заболевания, а также при проведении сквозной кератопластики. Полученные данные представляются важными для понимания патогенеза ЯР центральной локализации (характера и степени тяжести деструктивных повреждений) и должны приниматься во внимание при прогнозировании, разработке дифференцированного подхода к лечению заболевания.

Список литературы / References

1. Алексеева Л. А., Железникова Г.Ф., Жирков А.А., Скрипченко Н.В., Вильниц А.А., Монахова Н.Е., Бессонова Т.В. Субпопуляции лимфоцитов и цитокины в крови и цереброспинальной жидкости при вирусных и бактериальных менингитах // Инфекция и иммунитет, 2016. Т. 6, № 1. С. 33-44. [Alekseeva L.A., Zheleznikova G.F., Zhirkov A.A., Skripchenko N.V., Vilnits A.A., Monakhova N.E., Bessonova T.V. Lymphocyte subsets and cytokines in blood and cerebrospinal fluid in children with viral and bacterial meningitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2016, Vol. 6, no. 1, pp. 33-44. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-33-44.
2. Арестова Н.Н., Бржеский В.В., Вахова Е.С., Яни Е.В. Клиника, диагностика и консервативная терапия бактериальных язв роговицы // Федеральные клинические рекомендации. М., 2014. С. 16. [Arestova N.N., Brzhesky V.V., Vakhova E.S., Yani E.V. Clinic, diagnosis and conservative therapy of bacterial corneal ulcers. Federal clinical guidelines]. Moscow, 2014, p. 16.
3. Ковалева Л.А., Слепова О.С., Куликова И.Г., Миронкова Е.А. Роль аутоиммунного компонента при центральных язвах роговицы // Российский офтальмологический журнал, 2013. № 2. С. 29-31. [Kovaleva L.A., Slepova O.S., Kulikova I.G., Mironkova E.A. The role of the autoimmune component in central corneal ulcers. *Rossiyskiy oftalmologicheskii zhurnal = Russian Journal of Ophthalmology*, 2013, no. 2, pp. 29-31. (In Russ.)]
4. Копаева В.Г. Глазные болезни. М.: Медицина, 2002. С. 200-244. [Kopayeva V.G. Eye diseases]. Moscow: Medicine, 2002, pp. 200-244.
5. Кудрявцев И.В., Захарова Г.А., Гапонова Т.В. Исследование основных субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток при ревматоидном артрите // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 2 (1). С. 89-92. [Kudryavtsev I.V., Zakharova G.A., Gaponova T.V. Investigation of the main subpopulations of T-helpers and cytotoxic T cells in rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 2 (1), pp. 89-92. (In Russ.)]

6. Куликова И.Г., Слепова О.С., Макаров П.В., Ковалева Л.А., Кугушева А.Э. Роль (суб)популяционного дисбаланса лимфоцитов крови в развитии системной органоспецифической сенсибилизации при воспалительной и посттравматической патологии глаз // Российский офтальмологический журнал, 2013. Т. 6, № 4. С. 71-75. [Kulikova I.G., Slepova O.S., Mironkova E.A., Makarov P.V., Kugusheva A.E., Kovaleva L.A. The role of (sub) populational imbalance of blood lymphocytes in development of systemic organ-specific sensitization in inflammatory and posttraumatic eye diseases. *Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Ophthalmology*, 2013, Vol. 6, no. 4, pp. 71-75. (In Russ.)]
7. Майчук Ю.Ф. Терапевтические алгоритмы при инфекционных язвах роговицы // Вестник офтальмологии, 2000. № 3. С. 35-37. [Maychuk Yu.F. Therapeutic algorithms for corneal infectious ulcers. *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology*, 2000, no. 3, pp. 35-37. (In Russ.)]
8. Ченцова Е.В., Вериго Е.Н., Хазамова А.И., Яни Е.В. Современные аспекты лечения язвенных поражений роговицы // Евразийский союз ученых, 2016. № 2-2 (23). С. 99-105. [Chentsova E.V., Verigo E.N., Khazamova A.I., Yani E.V. Modern aspects of the treatment of corneal ulcerations. *Evraziyskiy soyuz uchenykh = Eurasian Union of Scientists*, 2016, no. 2-2 (23), pp. 99-105. (In Russ.)]
9. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2010. С. 314-332, 588-624. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010, pp. 314-332, 588-624.
10. Armengol M.P., Sabater L., Fernandez M. Influx of recent thymic emigrants into autoimmune thyroid disease glands in humans. *Clinical and Experimental Immunology*, 2008, Vol. 153, pp. 338-350.
11. Kafkala C., Choi J., Zafirakis P., Baltatzis S., Livir-Rallatos C., Rojas B., Foster C.S. Mooren ulcer: an immunopathologic study. *Cornea*, 2006, Vol. 25, no. 6, pp. 667-673.
12. Liu F., Duan X., Wan Z., Zang H., You S., Yang R., Liu H., Li D., Li J., Zhang Y., Xin S. Lower number and decreased function of natural killer cells in hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2016, Vol. 40, no. 5, pp. 605-613.
13. Liu Q., Smith C.W., Zhang W., Burns A.R., Li Z. NK cells modulate the inflammatory response to corneal epithelial abrasion and thereby support wound healing. *Am. J. Pathol.*, 2012, Vol. 181, no. 2, pp. 452-462.
14. López-Botet M., Vilches C., Redondo-Pachón D., Muntasell A., Pupuleku A., Yélamos J., Pascual J., Crespo M. Dual role of natural killer cells on graft rejection and control of cytomegalovirus infection in renal transplantation. *Front. Immunol.*, 2017, no. 8, p. 166.
15. Nascimbeni M., Shin E.C., Chiriboga L., Kleiner D.E., Rehmann B. Peripheral CD4(+)CD8(+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions. *Blood*, 2004, Vol. 104, no. 2, pp. 478-486.
16. Nurozler A.B., Salvarli S., Budak K. Results of therapeutic penetrating keratoplasty. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 2004, Vol. 48, no. 4, pp. 368-371.
17. Parel Y., Aurrand-Lions M., Scheja A. Presence of CD4⁺CD8⁺ double-positive T cells with very high interleukin-4 production potential in lesional skin of patients with systemic sclerosis. *Arthritis. Rheum.*, 2007, Vol. 56, pp. 3459-3467.
18. Schwartzkopff J., Schlereth S.L., Berger M., Bredow L., Birnbaum F., Böhringer D., Reinhard T. NK cell depletion delays corneal allograft rejection in baby rats. *MolVis*, 2010, no. 16, pp. 1928-1935.

Авторы:

Куликова И.Г. — старший научный сотрудник, отдел иммунологии и вирусологии ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Балацкая Н.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник, отдел иммунологии и вирусологии ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Ковалева Л.А. — научный сотрудник, отдел инфекционных и аллергических заболеваний глаз ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Макаров П.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник, отдел травматологии, реконструктивной, пластической хирургии и глазного протезирования ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Kulikova I.G., Senior Research Associate, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Balatskaya N.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Kovaleva L.A., Research Associate, Department of Infectious and Allergic Eye Diseases, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Makarov P.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Traumatology, Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Disease, Moscow, Russian Federation

Поступила 10.05.2017

Отправлена на доработку 19.06.2017

Принята к печати 12.10.2017

Received 10.05.2017

Revision received 19.06.2017

Accepted 12.10.2017