

## ЦИТОКИНЫ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК РАННИЕ БИОМАРКЕРЫ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Слепова О.С., Еремеева Е.А., Рябина М.В., Сорожкина Е.С.

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

**Резюме.** В статье представлены результаты мультиплексного анализа цитокинов в сыворотке крови и слезной жидкости при начальной и промежуточной стадиях возрастной макулярной дегенерации. Определены особенности локального и системного нарушения цитокинового статуса у этих пациентов. Установлено, что начальная стадия ВМД ассоциировалась с повышением уровня IL-17 в слезной жидкости и дисбалансом между локальной (повышение) и системной (снижение) секрецией TGF- $\beta$ 1. Промежуточная стадия ВМД ассоциировалась с повышением в крови и слезной жидкости уровней большинства исследованных цитокинов (за исключением TGF- $\beta$ 1), отражавшим стимуляцию не только провоспалительных и ангиогенных реакций, но и активацию противовоспалительных и противоинфекционных факторов.

**Ключевые слова:** цитокины, слезная жидкость, макулярная дегенерация

## CYTOKINES IN LACRIMAL FLUID AND BLOOD SERUM: EARLY BIOMARKERS OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Slepova O.S., Eremeeva E.A., Ryabina M.V., Sorozhkina E.S.

*H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** The article presents results of multiplex cytokine assays in blood serum and lacrimal fluid at the initial and intermediate stages of age-related macular degeneration (AMD). Some features of local and systemic disturbances in the cytokine profile were detected in these patients. It was revealed that the initial stage of AMD was associated with elevated IL-17 levels in lacrimal fluid, along with imbalance between the local increase and systemic decrease of TGF- $\beta$ 1 amounts. Intermediate-stage AMD was associated with increased levels of the most cytokines assayed (except of TGF- $\beta$ 1) in blood serum and lacrimal fluid, thus suggesting stimulation of both pro-inflammatory and angiogenic responses, like as activation of anti-inflammatory and anti-infective factors.

**Keywords:** cytokines, lacrimal fluid, biomarkers, macular degeneration

### Адрес для переписки:

Слепова Ольга Семеновна  
ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт  
глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства  
здравоохранения РФ  
105062, Россия, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19.  
Тел.: 8 (916) 246-97-64,  
E-mail: slepovaolga@yandex.ru

### Address for correspondence:

Slepova Olga S.  
H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian  
Ministry of Health Care  
105162, Russian Federation, Moscow, Sadovo-  
Chernogryazskaya str., 14/19.  
Phone: 7 (916) 246-97-64.  
E-mail: slepovaolga@yandex.ru

### Образец цитирования:

О.С. Слепова, Е.А. Еремеева, М.В. Рябина, Е.С. Сорожкина,  
«Цитокины в слезной жидкости и сыворотке крови  
как ранние биомаркеры возрастной макулярной  
дегенерации» // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 3.  
С. 245–252. doi: 10.15789/1563-0625-2015-3-245-252

© Слепова О.С. и соавт., 2015

### For citation:

O.S. Slepova, E.A. Eremeeva, M.V. Ryabina, E.S. Sorozhkina,  
“Cytokines in lacrimal fluid and blood serum: early biomarkers of  
age-related macular degeneration”, *Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya*, 2015, Vol. 17, no. 3, pp. 245–252.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-3-245-252

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-3-245-252>

## Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — одна из главных причин слепоты в пожилом возрасте. Известно, что старение часто ассоциируется с друзами, внеклеточными отложениями между пигментным эпителием сетчатки (ПЭС) и мембраной Бруха, многочисленность и слияние которых повышают риск развития поздних стадий ВМД [13]. Заболевание включает в себя совокупность изменений сетчатки, которые можно подразделить на последовательные стадии. Существует клиническая классификация ВМД (Age-Related Eye Disease Study AREDS), в которой выделены 4 стадии [9]. Отсутствие ВМД (AREDS 1) — отсутствие или небольшое количество твердых друз. Ранняя стадия ВМД (AREDS 2) — множественные твердые друзы, небольшое число мягких друз или изменения пигментного эпителия сетчатки (ПЭС). Промежуточная стадия ВМД (AREDS 3) — множество мягких друз; по крайней мере одна сливная друза или географическая атрофия, не затрагивающая центральной ямки сетчатки. У пациентов с ранней и промежуточной стадиями ВМД 5-летний риск развития поздней стадии (AREDS 4) составляет примерно 1,3 и 18% соответственно. Поздняя стадия характеризуется одним или несколькими из следующих признаков: географическая атрофия ПЭС и хориокапиллярного слоя в области центральной ямки сетчатки; хороидаальная неоваскуляризация (ХНВ), образование дисковидного рубца.

Установлено, что помимо пожилого возраста и других предпосылок (генетической предрасположенности, курения табака, атеросклероза и др.) существенную роль в возникновении и развитии ВМД играют иммунологические факторы, которые стали активно изучаться лишь в последнее десятилетие прошлого века и главным образом в экспериментальных работах [13, 14, 18, 19]. Показано, что друзы содержат иммунологически активные молекулы (амилоид Р, фрагменты компонента) и являются источником хронического локального воспаления. Прогрессирование ВМД ассоциируется с локальной ишемией и активацией клеток ПЭС, накоплением аутоантител к ретинальным антигенам, гиперпродукцией ангиогенных ростовых факторов и вовлечением в процесс близлежащих к друзам клеток ПЭС, фоторецепторных клеток и астроцитов. Развитие тяжелого осложнения ВМД — хороидаальной неоваскуляризации (ХНВ) — связывается с ослаблением защитных факторов (например, выработки PEDF, эндостатина) и усилением ангиогенных сигналов, при этом особая роль отводится VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) [3, 15, 21]. Поздняя стадия является терминальной и требует кардинальных методов лечения (интравитреаль-

ное введение анти-VEGF-препаратов больным с влажной формой ВМД) далеко не всегда приводящих к положительным результатам [2, 3]. Это определяет актуальность раннего прогнозирования риска возникновения и прогрессирования ВМД и разработки подходов к профилактике заболевания.

Исследования цитокинов, как важнейшего звена иммунорегуляции, в условиях клиники в целом немногочисленны, проводились они в основном у пациентов с развитой или далеко зашедшей стадиями ВМД и касались ограниченного спектра иммуномедиаторов [3, 4, 12, 17]. Особенности местных и системных нарушений в цитокиновом статусе на начальных стадиях заболевания остаются малоизученными; их роль в механизмах возникновения и прогрессирования ВМД неясна. Данные о мультиплексном анализе цитокинов в жидких средах глаза и в крови у пожилых людей (группа риска ВМД) и пациентов с ранними стадиями ВМД в литературе отсутствуют.

**Цель работы:** определение ранних биомаркеров ВМД на основе мультиплексного анализа цитокинов в слезной жидкости и сыворотке крови.

## Материалы и методы

Исследование цитокинов проводили на проточном цитометре BD FACS Canto II в программе BD FACS Diva, с помощью наборов CBA (BD Biosciences, США). Обработка данных осуществлялась в программе FCAP Array (Soft-Flow, США).

Тест-пробы: сыворотка крови (СК,  $n = 60$ ) и слезная жидкость (СЖ;  $n = 56$ ). Пробы хранились при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ . В каждой пробе определяли концентрацию 16 цитокинов: интерлейкины, факторы некроза опухоли, интерфероны, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A), трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ 1). Оценку результатов проводили с учетом чувствительности теста (разной для каждого цитокина).

Всего в исследование было включено 60 человек в возрасте от 43 до 68 лет. Согласно классификации AREDS, все пациенты были разделены на три группы: начальная стадия ВМД (AREDS 2 — 20 чел., средний возраст  $53,2 \pm 11,5$  года), промежуточная стадия (AREDS 3; 18 чел., средний возраст  $57,1 \pm 11,8$  лет), всего 38 пациентов с сухой формой ВМД (38 проб СК и 37 проб СЖ). В качестве возрастного контроля были исследованы пробы СК ( $n = 22$ ) и СЖ ( $n = 29$ ) от 22 практически здоровых людей (средний возраст  $55,7 \pm 12,7$  лет) без признаков офтальмопатологии (AREDS 1).

Статистическая обработка материала проводилась по программе «BIOSTATD-1998» (критерии Стьюдента, Фишера,  $\chi^2$ ).

## Результаты

Результаты мультиплексного анализа цитокинов у пациентов с ВМД, в сравнении с возрастным контролем, представлены в таблице 1 и 2.

Исследование контрольной группы (AREDS 1) показало, что в СК у практически здоровых пожилых людей большинство цитокинов (в рамках 16 исследованных) выявлялись в минимальных концентрациях или отсутствовали; исключение составили IL-8, IL-18 и ростовые факторы — TGF-β1 и VEGF-A (79-100% обнаружения, сравнительно высокий уровень). В СЖ были обнаружены (50-100%) практически все исследованные цитокины, как правило, в концентрациях, превышавших их уровни в СК. В целом это соответствовало данным литературы о «нормальном» цитокиновом профиле СК и СЖ [1, 6, 7, 8, 20].

При исследовании СК у пациентов с ВМД было обнаружено, что в обеих клинических группах (AREDS 2 и AREDS 3) имели место значительные сдвиги от «нормы» в частоте выявления и/или концентрации 6 из 16 цитокинов: увеличение содержания таких медиаторов воспаления, как IL-1β, IL-5, IL-8, при уменьшении IL-6 и противовоспалительного IL-10, а также снижении уровня TGF-β1 (важнейшего иммунорегуляторного фактора).

Усугубление изменений на глазном дне (AREDS 3) ассоциировалось с нарастанием сдвигов в системном цитокиновом статусе (9 из 16 цитокинов), в основном за счет выраженного усиления продукции IL-8 (ключевого хемотаксического, провоспалительного цитокина) и «подключения» ангиогенного фактора (подъем уров-

**ТАБЛИЦА 1. МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ВМД В СРАВНЕНИИ С ВОЗРАСТНЫМ КОНТРОЛЕМ**

| Группы | ВМД<br>AREDS 2 (n = 20) |                          | ВМД<br>AREDS 3 (n = 18) |                                       | Контроль<br>AREDS 1 (n = 22) |                    |
|--------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------|--------------------|
|        | Частота<br>абс (%)      | Сред. ур-нь<br>M±m       | Частота<br>абс (%)      | Сред. ур-нь<br>M±m                    | Частота<br>абс (%)           | Сред. ур-нь<br>M±m |
| IL-1β  | 16 (80)<br>*p < 0,001   | 19,2±4,1<br>*p < 0,001   | 18 (100)<br>*p < 0,001  | 27,8±3,3<br>*p < 0,001<br>**p = 0,03  | 4 (18)                       | 3,9±1,2            |
| IL-2   | 6 (30)                  | 56,4±8,7                 | 12 (67)                 | 64±12                                 | 10 (45)                      | 61,5±16,8          |
| IL-4   | 0                       | < 20,8                   | 6 (33)                  | 48,7±5,8                              | 2 (9)                        | 20,8               |
| IL-5   | 12 (60)<br>*p = 0,001   | 5,1±1,4                  | 8 (44)<br>*p < 0,025    | 8,7±1,6                               | 2 (9)                        | 20,3               |
| IL-6   | 12 (60)<br>*p = 0,001   | 4,0±0,9<br>*p < 0,001    | 6 (33)<br>*p < 0,001    | 5,2±1,6<br>*p = 0,002                 | 22 (100)                     | 9,2±0,7            |
| IL-8   | 14 (70)                 | 560±76<br>*p < 0,001     | 16 (89)                 | 2417±222<br>*p < 0,001<br>**p < 0,001 | 18 (82)                      | 44,3±10,5          |
| IL-10  | 2 (10)<br>*p = 0,017    | 4,8±1,8                  | 2 (11)<br>*p = 0,035    | 15                                    | 10 (45)                      | 7,7±3,8            |
| IL-12  | 0                       | < 1,5                    | 0                       | < 1,5                                 | 0                            | < 1,5              |
| IL-17  | 0                       | < 2,5                    | 2 (11)                  | 58,7                                  | 4 (18)                       | 17,3±4,2           |
| IL-18  | 20 (100)                | 1018±256                 | 18 (100)                | 1278±210                              | 22 (100)                     | 1156±120           |
| TNFα   | 8 (40)                  | 12,3±1,9                 | 8 (44)                  | 18±6                                  | 10 (45)                      | 12±5               |
| TNFβ   | 2 (10)                  | 36,4                     | 0                       | < 2,4                                 | 0                            | < 2,4              |
| IFNα   | 6 (30)                  | 23±3,3                   | 14 (78)<br>*p < 0,001   | 41±12                                 | 2 (9)                        | 48,5               |
| IFNγ   | 2 (10)                  | 2,4                      | 6 (33)<br>*p = 0,005    | 36±8,7                                | 0                            | < 1,6              |
| VEGF-A | 20 (100)                | 847±215                  | 18 (100)                | 2408±542<br>*p = 0,001<br>**p = 0,004 | 22 (100)                     | 773±151            |
| TGF-β1 | 20 (100)                | 11285±1676<br>*p = 0,002 | 18 (100)                | 10873±473<br>*p = 0,001               | 22 (100)                     | 18491±1204         |

**Примечание.** \* – достоверное отличие от контроля; \*\* – достоверное различие между группами AREDS 2 и AREDS 3.

**ТАБЛИЦА 2. МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ВМД В СРАВНЕНИИ С ВОЗРАСТНЫМ КОНТРОЛЕМ**

| Группы              | ВМД<br>AREDS 2 (n = 20) |                         | ВМД<br>AREDS 3 (n = 17)  |                                       | Контроль<br>AREDS 1 (n = 29) |                    |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------------|------------------------------|--------------------|
| Цитокины,<br>пкг/мл | Частота<br>абс (%)      | Сред. ур-нь<br>M±m      | Частота<br>абс (%)       | Сред. ур-нь<br>M±m                    | Частота<br>абс (%)           | Сред. ур-нь<br>M±m |
| IL-1β               | 6 (100)                 | 127±41                  | 13 (100)                 | 354±76<br>*p < 0,001<br>**p = 0,01    | 29 (100)                     | 79±15              |
| IL-2                | 6 (100)                 | 362±111                 | 13 (100)                 | 1042±176<br>*p = 0,043<br>**p = 0,002 | 29 (100)                     | 455±90             |
| IL-4                | 5 (83)                  | 61±18                   | 13 (100)                 | 183±35<br>*p = 0,01<br>**p = 0,003    | 23 (79)                      | 77±16              |
| IL-5                | 6 (100)                 | 98±40                   | 13 (100)                 | 362±53<br>*p = 0,002<br>**p < 0,001   | 29 (100)                     | 166±34             |
| IL-6                | 5 (83)                  | 20±6                    | 13 (100)                 | 75±15<br>*p = 0,01<br>**p < 0,001     | 29 (100)                     | 25±4               |
| IL-8                | 6 (100)                 | 827±293                 | 13 (100)                 | 644±70                                | 29 (100)                     | 1305±328           |
| IL-10               | 5 (83)                  | 47±23                   | 13 (100)                 | 257±67<br>**p = 0,003                 | 29 (100)                     | 105±28             |
| IL-12               | 2 (33)<br>*p = 0,001    | 43±0,2                  | 12 (92,3)<br>**p = 0,017 | 128±27<br>*p = 0,005<br>**p = 0,002   | 29 (100)                     | 40±8               |
| IL-17               | 5 (83)                  | 405±122<br>*p < 0,001   | 13 (100)                 | 789±117<br>*p < 0,001<br>**p = 0,031  | 18 (63)                      | 97±25              |
| IL-18               | 6 (100)                 | 649±101                 | 13 (100)                 | 1379±166<br>*p = 0,003<br>**p < 0,001 | 29 (100)                     | 535±103            |
| TNFα                | 6 (100)                 | 103±43                  | 13 (100)                 | 458±84<br>*p = 0,012<br>**p < 0,001   | 29 (100)                     | 155±37             |
| TNFβ                | 3 (50)                  | 88±25                   | 12 (92,3)                | 302±72<br>*p = 0,043<br>**p = 0,005   | 27 (93)                      | 130±33             |
| IFNα                | 6 (100)                 | 25±7<br>*p = 0,023      | 12 (92,3)                | 123±29<br>**p = 0,001                 | 27 (93)                      | 83±20              |
| IFNγ                | 4 (67)                  | 47±15                   | 13 (100)<br>*p = 0,008   | 236±65                                | 17 (59)                      | 233±90             |
| VEGF-A              | 6 (100)                 | 4319±454                | 13 (100)                 | 4423±379                              | 29 (100)                     | 5038±284           |
| TGF-β1              | 6 (100)                 | 4438±1661<br>*p = 0,031 | 13 (100)                 | 3882±1139                             | 26 (90)                      | 2714±95            |

**Примечание.** \* – достоверное отличие от контроля (AREDS 1); \*\* – достоверное различие между группами AREDS 2 и AREDS 3.

ней VEGF-A). Кроме того, на стадии AREDS 3 отмечалось достоверное повышение уровней IL-1β и частоты обнаружения интерферонов, однако без существенного подъема их уровней.

Изменения цитокинового профиля СЖ на стадии AREDS 2 касались 7 из 16 цитокинов. Обна-

ружено достоверное повышение уровней IL-17 и TGF-β1, при снижении IFNα (достоверном), IFNγ, IL-8 и IL-10 (тенденция) и уменьшении частоты выявления IL-12. На стадии AREDS 3 сдвиги от нормы были выражены намного сильнее (14 из 16 цитокинов). Это проявилось достоверным

подъемом уровней не только IL-17 (более значительным, чем при AREDS 2), но и целого ряда других цитокинов, включая IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  (частота выявления). Вместе с тем концентрация TGF- $\beta$ 1 снижалась практически до контрольного уровня.

Следует отметить, что при исследовании некоторых цитокинов была обнаружена разнонаправленность местных и системных сдвигов: гиперсекреция в СЖ TGF- $\beta$ 1 (AREDS 2), IL-6 и IL-10 (AREDS 3), при их «дефиците» в СК на обеих стадиях ВМД. Содержание IL-8, напротив, было высоким в СК, особенно на стадии AREDS 3, тогда как в СЖ отмечалась тенденция к уменьшению его уровней по сравнению с нормой. В целом это отражало дисбаланс между локальной и системной секрецией ряда иммунорегуляторных факторов.

Обобщение результатов исследования цитокинов в СЖ и СК показало, что на обеих стадиях ВМД имели место нарушения как местного, так и системного цитокинового статуса (рис. 1). Причем, если на самом раннем этапе заболевания (AREDS 2) они обнаруживались почти с равной частотой (7 и 6 из 16 цитокинов соответственно), то на более развитой стадии (AREDS 3) локальные нарушения преобладали (14 и 7 из 16 цитокинов соответственно). В целом усугубление клинической картины (переход AREDS 2 в AREDS 3) ассоциировалось с общим нарастанием иммунологических сдвигов и количественным, а иногда и качественным, изменением (конверсия) показателей (табл. 3).

## Обсуждение

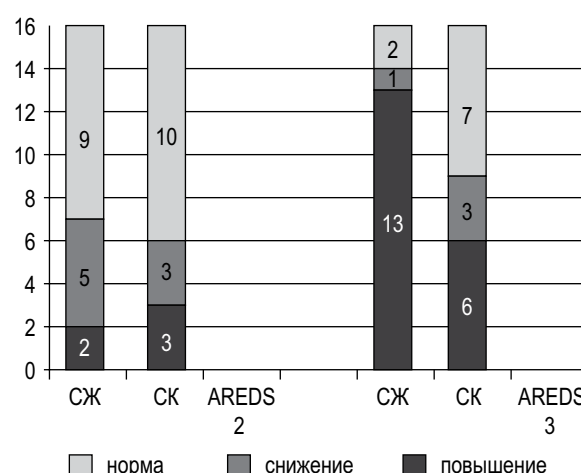
Результаты проведенного исследования показали, что начальная и промежуточная стадии ВМД ассоциируются с более или менее выраженными сдвигами в содержании цитокинов в СЖ и СК (по сравнению с возрастным контролем — «нормой»). Эти сдвиги рассматриваются нами в качестве индикатора нарушений в важнейшем — цитокиновом — звене иммунорегуляции на уровне глаза и всего организма. Установлено, что переход из начальной в промежуточную стадию ВМД ассоциируется с нарастанием и качественным изменением системных и локальных сдвигов в сети цитокинов, что может иметь прогностическое значение. Так, начальная стадия ВМД (AREDS2) ассоциировалась с усилением секреции в СЖ и/или СК цитокинов, способных вызывать провоспалительные, хемотаксические эффекты (основные: IL-17 и TGF- $\beta$ 1 — в СЖ; IL-1 $\beta$ , IL-5 и IL-8 — в СК), что согласуется с концепцией о роли воспаления в развитии ВМД [18, 19] и данными об особом значении IL-17 (способствует развитию аутоиммунных реакций) как факторе риска [22]. Особое внимание на этой стадии заболевания привлекала разнонаправлен-

**ТАБЛИЦА 3. СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ ЦИТОКИНОВ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НАЧАЛЬНОЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ СТАДИЯМИ ВМД**

| Стадия ВМД     | AREDS 2 |        | AREDS 3 |            |
|----------------|---------|--------|---------|------------|
| Цитокин        | СЖ      | СК     | СЖ      | СК         |
| IL-1 $\beta$   |         | ↑#↑*   | ↑# (!)  | ↑# (!), ↑* |
| IL-2           |         |        | ↑# (!)  |            |
| IL-4           |         |        | ↑# (!)  |            |
| IL-5           |         | ↑*     | ↑# (!)  | ↑*         |
| IL-6           |         | ↓#, ↓* | ↑# (!)  | ↓#, ↓*     |
| IL-8           | ↓       | ↑#     | ↓       | ↑# (!)     |
| IL-10          | ↓       | ↓*     | ↑ (!)   | ↓*         |
| IL-12          | ↓*      |        | ↑# (!)  |            |
| IL-17          | ↑#      |        | ↑# (!)  |            |
| IL-18          |         |        | ↑# (!)  |            |
| TNF $\alpha$   |         |        | ↑# (!)  |            |
| TNF $\beta$    |         |        | ↑# (!)  |            |
| IFN $\alpha$   | ↓#      |        | ↑ (!)   | ↑*         |
| IFN $\gamma$   | ↓       |        | ↑*      | ↑*         |
| VEGF-A         |         |        |         | ↑# (!)     |
| TGF- $\beta$ 1 | ↑#      | ↓#     |         | ↓#         |

**Примечание.** 1) сдвиги по отношению к «возрастной норме»: ↑#↓# — достоверное повышение или снижение сред. уровня, ↑↓ — тенденция к повышению или снижению сред. уровня, ↑\*↓\* — достоверное повышение или снижение частоты выявления.

2) (!) — достоверный сдвиг по сравнению с AREDS 2.



**Рисунок 1. Цитокины в слезной жидкости и сыворотке крови у пациентов с ВМД начальной и промежуточной стадиями заболевания**

**Примечание.** Сдвиги от «нормы» (по числу из 16 исследованных цитокинов).

ность местных и системных сдвигов в содержании TGF- $\beta$ 1 (гиперсекреция в СЖ при дефиците в СК). Как известно, TGF- $\beta$ 1 является одним из важнейших иммунорегуляторных цитокинов и проявляет преимущественно супрессорные эффекты, сдерживающие развитие аутоиммунных и пролиферативных процессов [8]. Снижение его уровня в СК у больных с ВМД могло явиться индикатором системного нарушения иммунорегуляции и способствовать усилению иммунопатологических реакций. Значительное повышение содержания TGF- $\beta$ 1 в СЖ на самой ранней стадии заболевания, возможно, отражало локальную компенсаторную активацию его выработки, направленную на предупреждение прогрессирования ВМД. Вместе с тем, известно, что гиперсекреция TGF- $\beta$  может сопровождаться ангиогенным действием («эффект супериндукции») [5] и ассоциироваться с формированием ХНВ при экспериментальном моделировании ВМД [10]. Не исключено, что такая «двойственность» свойств TGF- $\beta$ 1 может отразиться на дальнейшем течении патологического процесса на глазном дне, тормозя его развитие или, напротив, усугубляя клиническую картину.

Выявленное в начале заболевания повышение в СК и/или СЖ уровней некоторых провоспалительных медиаторов ассоциировалось с более или менее явным ослаблением секреции ряда других цитокинов (IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-8, IL-10, IL-12 — в СЖ; IL-6, IL-10 — в СК), большинство из которых (прежде всего — интерфероны) принято рассматривать в аспекте защиты от инфекций. Косвенным свидетельством влияния инфекционного фактора могут служить отмеченные нами у пациентов с промежуточной стадией ВМД (AREDS 3) признаки активации системы интерферонов, однако, по-видимому, недостаточной для реализации защитных, противовирусных эффектов (увеличение частоты выявления IFN $\alpha$  и/или IFN $\gamma$  в СК и/или СЖ, но без существенного повышения уровней). Это согласуется с мнением ряда исследователей о роли вирусов группы герпеса, как факторах, способствующих прогрессированию ВМД и формированию хориоидальной неоваскулярной мембраны, на фоне ослабления иммунитета [4, 11, 16].

Характерной особенностью промежуточной стадии ВМД (AREDS3) явилось повышение уровней и/или частоты выявления большинства исследованных цитокинов (за исключением TGF- $\beta$ 1) в обеих тест-пробах (в редких случаях — только в СЖ или только в СК, например IL-6 и IL-8 соответственно). Особое внимание привлекало селективное усиление системной выработки VEGF-A — ключевого ангиогенного фактора. Не исключено, что оно могло предшествовать нарастанию локальных ангиогенных эффектов,

характерных для тяжелого осложнения (хорио-ретиальная неоваскуляризация) на поздней стадии ВМД, которая в данной работе не изучалась. В целом это свидетельствовало о сочетанной (реже — селективной) активации цитокиновых реакций на уровнях глаз — организм, как о важных патогенетических факторах прогрессирования ВМД. Обобщение полученных данных позволило определить иммунологические критерии раннего прогнозирования возникновения и прогрессирования ВМД с ориентацией на доступный для исследования биологический материал.

При исследовании цитокинов в СЖ возникновение ВМД (AREDS 2) ассоциировалось главным образом с повышением уровней TGF- $\beta$ 1 (характерным только для этой стадии), а также IL-17; дополнительным показателем явилось снижение секреции таких «защитных» цитокинов, как IFN $\alpha$  (достоверное), а также IFN $\gamma$  и IL-10 (тенденция). «Переход» AREDS 2 в AREDS 3 характеризовался сочетанным увеличением в СЖ концентрации целого комплекса медиаторов воспаления, включая не только IL-17 и другие провоспалительные цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ ), но и противовоспалительные (IL-4, IL-10) и интерфероны, содержание которых в самом начале заболевания было, как отмечалось ранее, низким (конверсия). Исходя из этих данных, при исследовании в СЖ оптимальным представляется мультиплексный анализ с оценкой качественных изменений в динамике и наиболее пристальным вниманием к IL-17 и TGF- $\beta$ 1.

Следует отметить, что в ряде случаев (нарушение слезопродукции, трудности забора СЖ) на первый план может выходить исследование цитокинов в СК.

По нашим данным, риск возникновения ВМД (AREDS 2) ассоциируется с повышением в СК уровней IL-1 $\beta$  и IL-8, при снижении содержания прежде всего TGF- $\beta$ 1, а также IL-6. Критерием «перехода» стадии AREDS 2 в стадию AREDS 3 может служить резкий подъем в СК уровня IL-8 и увеличение концентрации IL-1 $\beta$  и VEGF-A, на фоне сохраняющегося «дефицита» TGF- $\beta$ 1. В целом, учитывая сравнительно небольшие концентрации IL-1 $\beta$  и IL-6, наиболее информативным представляется исследование в СК IL-8, VEGF-A и TGF- $\beta$ 1.

Таким образом, в результате проведенных исследований представлена характеристика локальных и системных сдвигов в цитокиновом статусе, связанных с возникновением ВМД (начальная стадия) и усугублением изменений на глазном дне (промежуточная стадия), что позволяет рассматривать их в качестве ранних биомаркеров заболевания.

## Список литературы / References

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: ФОЛИАНТ, 2008. С. 497-533. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: FOLIANT, 2008, pp. 497-533.
2. Нероев В.В., Рябина М.В., Чиковани К.Р., Нероева Н.В. Современные представления и подходы к лечению возрастной макулярной дегенерации // Российский офтальмологический журнал, 2008. Т. 1, № 1. С. 6-9. [Neroyev V.V., Ryabina M.V., Chikovani K.R., Neroyeva N.V. Modern ideas and approaches to the treatment of age-related macular degeneration. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmologic Journal*, 2008, Vol. 1, no. 1, pp. 6-9. (In Russ.)]
3. Нероев В.В., Слепова О.С., Рябина М.В., Карапетян Л.В. Изменение содержания VEGF в слезной жидкости и сыворотке крови у больных с влажной формой ВМД на фоне лечения препаратом Луцентис // Российский офтальмологический журнал, 2013. Т. 6, № 3. С. 62-65. [Neroyev V.V., Slepova O.S., Ryabina M.V., Karapenyan L.V. Changing the content of VEGF in the tear fluid and serum of patients with wet AMD after Lucentis treatment. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2013, Vol. 6, no. 3, pp. 62-65. (In Russ.)]
4. Мухамедьянова А.Ш., Азнабаев Р.А., Азнабаева Л.Ф. Клинические и иммунологические факторы возникновения и течения возрастной макулярной дегенерации // Вестник офтальмологии, 2014. Т. 130, № 3. С. 9-13. [Mukhamed'ianova A.Sh., Aznabaev R.A., Aznabaeva A.F. Clinical and immunological factors of the onset and development of age-related macular degeneration. *Vestnik oftal'mologii = Bulletin of Ophthalmology*, 2014, Vol. 130, no. 3, pp. 9-13. (In Russ.)]
5. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 2003. С. 169-179. [Paltsev M.A., Ivanov A.A., Severin S.E. Cell-cell interactions]. Moscow: Medicine, 2003, pp. 169-179.
6. Слепова О.С., Куликова И.Г., Андрияшин А.А., Сорожкина Е.С., Макаров П.В., Денисова Е.В., Ловпаче Д.Н., Захарова Г.Ю., Кугушева А.Э., Кондратьева Ю.А., Еремеева Е.А., Ковалева Л.А., Белова М.В., Арапов М.У., Симрайс О.С., Танковский В.Э., Шихалева М.С. Цитокиновый профиль слезной жидкости при разных формах офтальмопатологии и возрастные нормы // VII Российский общенациональный офтальмологический форум. Сборник научных трудов. М., 2014. Т. 2. С. 456-460. [Slepova O.S., Kulikova I.G., Andryushin A.A., Sorozhkina E.S., Makarov P.V., Denisova E.V., Lovpache D.N., Zakharova G.U., Kugusheva A.E., Kondratyeva Yu.A., Eremeeva E.A., Kovaleva L.A., Belova M.V., Arapov M.U., Simrays O.S., Tankovskiy V.E., Shihaleva M.S. Cytokine profile Tears in various forms ophthalmopathology and age norms]. VII Russian national ophthalmology forum. Collection of scientific papers. Moscow, 2014, Vol. 2, pp. 456-460.
7. Слепова О.С. Патогенетическая роль цитокинов при различных заболеваниях глаз как основа прогнозирования и выбора тактики иммунокорректирующего лечения // Российский офтальмологический журнал, 2008. Т. 1, № 3. С. 36-42. [Slepova O.S. The pathogenetic role of cytokines in various eye diseases as basis for prognostication and the choice of immune correction tactics. *Rossiyskiy oftal'mologicheskii zhurnal = Russian Ophthalmological Journal*, 2008, Vol. 1, no. 3, pp. 36-42. (In Russ.)]
8. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 511-512. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010, pp. 511-512.
9. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, betacarotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS. *Arch. Ophthalmol.*, 2001, Vol. 119, pp. 1417-1436.
10. Bora P.S., Sohn J.H., Cruz J.M., Jha P., Nishihori H., Wang Y., Kaliappan S., Kaplan H.J. Role of complement and complement membrane attack complex in laser-induced choroidal neovascularization. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 1, pp. 491-497.
11. Cousins W.S., Espinosa-Heidmann D.G., Miller D.M., Pereira-Simon S., Hernandez E.P., Chien H., Meier-Jewett C., Dix R.D. Macrophage activation associated with chronic murine cytomegalovirus infection results in more severe experimental choroidal neovascularisation. *PLoS Pathogens*, 2012, Vol. 8, no. 4.
12. Faber C., Jehs T., Juel H.B., Singh A., Falk M.K., Sørensen T.L., Nissen M.H. Early and exudative age-related macular degeneration is associated with increased plasma levels of soluble TNF receptor II. *Acta Ophthalmol.*, 2014, Nov 2.
13. Johnson P.T., Lewis G.P., Talaga K.C., Brown M.N., Kappel P.J., Fisher S.K., Anderson D.H., Johnson L.V. Drusen-associated degeneration in the retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003, Vol. 44, no. 10, pp. 4481-4488.
14. Jayakrishna Ambati, John P. Atkinson and Bradley D. Gelfand. Immunology of age-related macular degeneration. *Nature Reviews Immunology*, 2013, Vol. 13, pp. 438-451.
15. Miller D.W., Joussen A.M., Holz F.G. Die molekularen Mechanismen der neovaskularen AMD. [The molecular mechanisms of neovascular age-related macular degeneration]. SO: *Ophthalmologe*, 2003, Vol. 100, no. 2, pp. 92-96.
16. Miller D.M., Ersinosa-Heidman D.G., Legra J., Dubovy S.R., Suner I.J., Sedmak D.D., Dix R.D., Cousins S.W. The association of prior cytomegalovirus infection with neovascular age-related macular degeneration. *A.J. Ophthalmol.*, 2004, Vol. 138, no. 3, pp. 323-328.
17. Nassar K., Grisanti S., Elfars E., Lüke J., Lüke M., Grisanti S. Serum cytokines as biomarkers for age-related macular degeneration. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2014, Jul. 24.

18. Penfold P.L., Madigan M.C., Gillies M.C., Provis J.M. Immunological and aetiological aspects of macular degeneration. *Prog. Retin. Eye. Res.*, 2001, Vol. 20, no. 3, pp. 385-414.
19. Penfold P.L. Inflammation and age-related macular degeneration. 2004, Vol. 292, no. 1, p. 43; author reply 43IS: 1538-3598Y: 2004 JAMA, 2004, Vol. 291, no. 6, pp. 704-710.
20. Sack R.A., Conradi L., Krumholz D., Beaton A., Sathe S., Morris C. Membrane array characterization of 80 chemokines, cytokines, and growth factors in open- and closed-eye tears. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005, Vol. 46, no. 4, pp. 1228-1238.
21. Schwesinger C., Yee C., Rohan R.M., Joussen A.M., Fernandez A., Meyer T.N., Poulaki V., Ma J.J., Redmond T.M., Liu S., Adamis A.P., D'Amato R.J. Intrachoroidal neovascularization in transgenic mice overexpressing vascular endothelial growth factor in the retinal pigment epithelium. *Am. J. Pathol.*, 2001, Vol. 158, no. 3, pp. 1161-1172.
22. Zhang S., Liu Y., Lu S., Cai X. Genetic Variants of Interleukin 17A. Are functionally associated with increased risk of age-related macular degeneration. *Inflammation*, 2014, Jul. 16.

---

**Авторы:**

**Слепова О.С.** — д.б.н., профессор, заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Еремеева Е.А.** — врач-офтальмолог взрослого консультативно-поликлинического отделения, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Рябина М.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник отдела патологии сетчатки, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Сорожкина Е.С.** — сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

---

**Authors:**

**Slepova O.S.**, PhD, MD (Biology), Professor, Chief, Laboratory of Immunology and Virology, H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation

**Eremeeva E.A.**, Eye Physician, Outpatient Department for Adults, H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation

**Ryabina M.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Retinal Pathology, H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation

**Sorozhkina E.S.**, Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology, H. Helmholtz Research Institute for Ocular Diseases, Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 18.02.2015  
Отправлена на доработку 20.03.2015  
Принята к печати 14.04.2015

---

Received 18.02.2015  
Revision received 20.03.2015  
Accepted 14.04.2015