

УДК 617.7-007.681: 612.017.1

# Особенности местного и системного цитокинового статуса у здоровых разного возраста и пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы

**СЛЕПОВА О.С.**, д.б.н., профессор, начальник отдела иммунологии и вирусологии;  
**АРАПИЕВ М.У.**, аспирант отдела глаукомы;  
**ЛОВПАЧЕ ДЖ.Н.**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела глаукомы;  
**БАЛАЦКАЯ Н.В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии;  
**КУЛИКОВА И.Г.**, старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии.

ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, 105062, Российская Федерация, Москва,  
ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19.

Финансирование исследования проходило в рамках диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на базе МНИИ им Гельмгольца МЗ РФ. Авторы не имеют финансовых интересов в рамках этого исследования. Конфликт интересов: отсутствует.

## Резюме

**ЦЕЛЬ.** Выявить особенности инволюционных изменений, их возможный вклад в патологический процесс на основании сравнительного исследования цитокинового статуса в ходе естественного старения и при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ).

**МЕТОДЫ.** Обследованы 64 человека (64 глаза) в возрасте от 21 года до 72 лет, из них 16 человек (16 глаз) — молодые здоровые добровольцы (1-я группа; средний возраст 26,6±5 лет; «молодой» контроль); 12 человек (12 глаз) — практически здоровые люди пожилого возраста (2-я группа; средний возраст 69,3±3 года; «возрастной» контроль); 20 человек (20 глаз) с подозрением на ПОУГ (3-я группа; средний возраст 66,2±5 лет); 16 человек (16 глаз) с начальной стадией ПОУГ (4-я группа; средний возраст 67,8±4 года). Материал иммунологического исследования: сыворотка периферической крови (СК, n=64) и слезная жидкость (СЖ, n=64). В каждой тест-пробе методом мультиплексного анализа определяли концентрацию 16 цитокинов различного биологического действия: интерлейкинов (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18); факторов некроза опухоли (TNF-α, TNF-β); интерферонов (IFN-α, IFN-γ); фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A); трансформирующего фактора роста (TGF-β1). Исследование цитокинов проводили на проточном цитометре BD FACS Canto II в программе BD FACS Diva, с помощью наборов CBA («BD Biosciences», USA), обработку данных осуществляли в программе FCAP Array («Soft Flow», USA).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** В ходе исследования системной продукции цитокинов в группе «возрастного» контроля отмечены статистически значимые сдвиги от «молодой» нормы 4 цитокинов из 16 как по частоте их выявления (отсутствие IFN-γ во всех пробах СК), так и концентрации: снижению уровня IL-1β, IFN-α при повышении содержания IL-6, TGF-β1. При анализе цитокинов в СЖ

добровольцев из указанных групп существенных сдвигов не было выявлено.

Достоверные различия в показателях системного и местного цитокинового статуса обнаружены между группами «возрастного» контроля, подозрения на глаукому и начальной стадии ПОУГ.

В СК пациентов с подозрением на ПОУГ отмечен статистически значимый сдвиг от «возрастной» нормы 5 цитокинов из 16: усиление продукции медиаторов воспаления IL-1β, IL-5, а также IFN-α (с тенденцией к повышению уровней IL-2, IL-4, IL-8, IL-17A, IFN-γ, TNF-α) и снижение концентрации IL-6 и TGF-β1; во всех тест-пробах отсутствовал TNF-β.

Характерной особенностью для этой группы явилось «подключение» системной продукции — повышение концентрации в СК IL-1β — иммуномедиатора с широким спектром биологической активности.

Изменения локального цитокинового профиля при подозрении на ПОУГ носили резко выраженный характер относительно «возрастного» контроля и касались 14 из 16 цитокинов, за исключением IL-8 и VEGF-A. В СЖ пациентов этой группы обнаружено статистически значимое повышение содержания IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IFN-α, IFN-γ, TNF-α, TNF-β, TGF-β1.

При переходе в начальную стадию ПОУГ на системном уровне отмечен прогрессивный (статистически значимый) рост концентраций провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-5 и дальнейшее снижение IL-6 и TGF-β1. Характерным для этой группы было отсутствие системной продукции IL-4, IL-10, IL-12p70, IFN-γ и IFN-α.

Сравнительный анализ исследования содержания цитокинов в СЖ групп «возрастного» контроля и начальной ПОУГ выявил достоверное повышение локальной продукции IL-1β, IL-5, IL-12p70, IL-18, TNF-α, TNF-β, VEGF-A, TGF-β1 у пациентов с начальной стадией заболевания.

## Для контактов:

**Арапиев Магомед Усманович**, e-mail: usmanyach@yandex.ru

Поступила в печать: 19.06.2015

Received for publication: June 19, 2015

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В результате исследования представлена характеристика сдвигов в цитокиновом профиле на местном и системном уровнях у здоровых добровольцев молодого и пожилого возраста без офтальмопатологии, у пациентов при наличии подозрения на первичную глаукому и с начальной стадией ПОУГ. Выявленные особенности возрастных и патологических изменений локальной и системной продукции цитокинов свидетельствуют о существенном отклонении направлений векторов развития ПОУГ и физиологического старения. Полученные данные позволяют думать, что нарушение цитокиновой регуляции на ранних этапах заболевания

характерно для первичной глаукомы и начинается задолго до известных клинических проявлений ПОУГ. Вышесказанное дает основание для дальнейших исследований, представляется важным для расшифровки предпосылок развития ПОУГ, позволяет предполагать возможность поиска ранних маркеров заболевания на доклиническом, функционально интактном этапе у пациентов групп риска.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** физиологическое старение, первичная открытоугольная глаукома, сыворотка крови, слезная жидкость, цитокины, ранняя диагностика глаукомы.

## ENGLISH

## Specifics of local and systemic cytokine profile in healthy people of different ages and patients with early stage of primary open-angle glaucoma

**SLEPOVA O.S.**, Biol.Sc.D., Professor, Head of the Immunology and Virology Department;

**ARAPIEV M.U.**, Postgraduate student of the Glaucoma Department;

**LOVPACHE D.N.**, Ph.D., Senior Research Associate of the Glaucoma Department;

**BALATSKAYA N.V.**, Ph.D., Leading Research Associate of the Immunology and Virology Department;

**KULIKOVA I.G.**, Senior Research Associate of the Immunology and Virology Department.

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya st., Moscow, Russian Federation, 105062.

Financing of research took place within thesis work conducted for a Ph.D. academic degree on the basis of MNII of eye diseases of Helmholtz MZ Russian Federation. Conflicts of Interest and Source of Funding: none declared.

### Abstract

**OBJECTIVE:** To identify the differences and similar changes in the cytokine profiles during a natural ageing process and in the course of primary open angle glaucoma (POAG) and identify the possible contribution of ageing changes in the pathological process.

**METHODS:** The study included 64 people aged 21 to 74 years. All subjects were divided into 4 groups: group I, «the young control group», consisted of 16 healthy young people (26±5 years); group II, «the senior control group» — included 12 healthy elderly people (69±4 years); group III, 20 glaucoma suspects (68±6 years); group IV consisted of 16 people with the early-stage of POAG (67±5 years). Blood serum (n=64) and tear fluid (Tf, n=64) were used as test samples. The investigation included interleukins (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18); tumor necrosis factors (TNF-α, TNF-β); interferons (IFN-α, IFN-γ); vascular endothelial growth factor (VEGF-A) and transforming growth factor (TGF-β1). Investigation of cytokines was performed by a flow cytometer BDFACS Cantoll with the use of BDFACS Diva program, using CBA kits ("BD Biosciences", USA). The data was processed by FCAP Array program ("SoftFlow", USA). Statistical analysis was performed by SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) software, using U-Mann-Whitney test, (p < 0.05 was considered statistically significant).

**RESULTS:** A significant increase of the IFN-α, TGF-β1, IL-6 levels, a significant decrease of IL-1β and an insignificant decrease IL-8, IL-17, IFN-γ, VEGF-A were discovered in the blood serum of healthy elderly people compared to younger donors. In glaucoma suspect group a significant increase

of IL-1β, IFN-α, TNF-α, TNF-β and an insignificant increase of IL-2, IL-5, IL-4, IL-5, IL-8, IL-17 and IFN-γ compared to "age control" were observed. However, there also was a significant decrease of IL-6 and TGF-β1 and an insignificant decrease VEGF-A. When we compared the serum cytokine in the 2nd ("age control") and 4th (early-stage POAG) groups, we revealed a significant increase in the IL-1β, IL-5 levels and a significant decrease in the IL-6, TGF-β1 levels, as well as an insignificant decrease of IL-10, IL-12, VEGF-A in 4th group. Analysis of the cytokine levels in the Tf showed no significant differences between the two control groups (1st and 2nd group). In the Tf of the glaucoma suspects all cytokine levels except for IL-8, and VEGF-A were significantly increased. Significantly increased levels of cytokines IL-1β, IL-5, IL-12p70, IL-18, TNF-α, TNF-β, VEGF-A, TGF-β1 were discovered in the Tf in the 4th group (early-stage POAG) as compared to the 2nd ("age control").

**CONCLUSION:** The specifics of age and pathological changes of local and systemic cytokine levels presented in our study show a significant deviation of the immune system during the development of POAG. This is confirmed by the absence of significant changes in most of the investigated cytokines in the course of a natural aging process and changes in the cytokine levels during the development of POAG. Our data suggest the possibility of searching early markers of the disease in patients at risk, taking into account the characteristics of their immune profile.

**KEYWORDS:** senescence, primary open-angle glaucoma, blood serum, tear fluid, cytokines, early diagnosis of glaucoma.

**В** настоящее время известны два достоверных фактора риска развития первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ). Это повышение внутриглазного давления (ВГД) [1-8] выше безопасного (индивидуально толерантного) уровня и пожилой возраст пациента [9-15].

Молекулярные механизмы, определяющие начальные и прогрессирующие патологические (дистрофические) изменения в пределах глазного яблока при ПОУГ, находятся на этапе изучения.

Особое внимание уделяется иммунологическим факторам, патологическая роль которых при глаукоме рассматривается в нескольких аспектах: во-первых, в поражении ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) и их аксонов, во-вторых, в повреждении решетчатой мембраны склеры, в-третьих, в патологии дренажного аппарата и нарушении оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) и, наконец, в избыточном рубцевании тканей после антиглаукомных операций.

Показано, что с возрастом структуры соединительной ткани как в переднем, так и в задних отделах глаза видоизменяются, приобретая антигенные/иммуногенные свойства. Имеются доказательства, что развитие заболевания ассоциируется с нарушением функциональной активности Т-системы иммунитета, накоплением тканеспецифических аутоантител (главным образом против трабекулы и сосудистой оболочки); у большинства больных с ПОУГ аутоантитела выявляются и в сыворотке крови (СК) [16].

Согласно представлениям общей иммунологии, одним из механизмов, способствующих развитию и прогрессированию заболевания, могут быть нарушения в основных регуляторных звеньях иммунной системы, в частности, нарушения в системе цитокиновой регуляции [17].

Данные исследований последнего десятилетия убедительно свидетельствуют о важном вкладе цитокинов в патогенез ПОУГ.

Так, в работах O.W. Gramlich, J. Chuai, Y. Takai et al. обнаружено повышение уровня провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 в сетчатке глаукомных глаз по сравнению с контролем [18, 21, 22].

Выявлена нейротоксическая роль фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) (главным образом в эксперименте) в поражении ганглиозных клеток сетчатки и их аксонов. Так, в модели глаукомы на животных повышение уровня этого цитокина ассоциировалось с потерей ГКС и олигодендроцитов [25-26, 29]. Показано, что источником TNF- $\alpha$  в сетчатке выступают глиальные клетки, продуцируя его в ответ на стресс-воздействие, в частности, ишемию, повреждение ткани (повышение давления) и т.д. [30]. Эти данные нашли подтверждение в иммуногистохимических исследованиях образцов тканей глаза человека [31-34]. В работе H. Sawada

выявлен достоверно более высокий уровень TNF- $\alpha$  во влаге передней камеры больных глаукомой по сравнению с контролем [24]. Повышенная концентрация этого медиатора в СК отмечена при нейродегенеративных заболеваниях: болезни Альцгеймера, рассеянном склерозе, болезни Паркинсона [28].

Интерферон гамма (IFN- $\gamma$ ) также представляет интерес в плане изучения его роли в развитии глаукомы. В экспериментальных исследованиях выявлено, что пониженный уровень IFN- $\gamma$  ассоциировался с большей выживаемостью ГКС [36]. Отмечено повышенное содержание IFN- $\gamma$  во влаге передней камеры у пациентов с глаукомой, по сравнению с группой контроля [22-24, 35]. Получены многочисленные доказательства о важной роли трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) в патологии дренажного аппарата глаза [19, 20].

Делаются попытки (в эксперименте и клинике) выделить ключевые иммуномедиаторы, установить закономерности, важные для понимания патогенеза и прогнозирования ПОУГ.

Показано, что у пациентов с подозрением на глаукому, а также у больных с начальной и развитой стадиями ПОУГ выявляется повышенный уровень провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  в слезной жидкости (СЖ) и сыворотке крови (СК). Установлена корреляционная взаимосвязь между уровнями IL-1 $\beta$  и внутриглазного давления (ВГД). Имеются данные о том, что прогрессирование глаукомы сопровождается ростом в СЖ концентрации провоспалительных (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-17) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов [37]. В этой же работе выявлено изменение содержания цитокинов в СК, что комментируется авторами как активация иммунной системы при ПОУГ [37].

Таким образом, исследования цитокинов, как важнейшего звена иммунорегуляции, в условиях клиники проведены в основном у пациентов с развитыми или далекозашедшими стадиями ПОУГ и затрагивали ограниченный спектр иммуномедиаторов.

Особый интерес представляет изучение цитокинов у пожилых людей без признаков офтальмопатологии, поскольку возрастные изменения иммунного статуса могут способствовать возникновению заболеваний, являющихся своеобразными «спутниками» стареющего организма. Считается, что заболевания старческого возраста возникают на фоне иммуно-нейроэндокринной дисрегуляции. Данное обстоятельство не позволяет исключить вклад инволюционных изменений в цитокиновый статус на местном и системном уровне при любой возраст-ассоциированной офтальмопатологии и, в частности, при ПОУГ [38].

Особенности местных и системных сдвигов цитокинов у пациентов группы риска возникновения ПОУГ (подозрение на ПОУГ) остаются малоизученными; целенаправленного исследования данных

## Клиническая характеристика групп

	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
Количество обследуемых в группе (n)	16	12	20	16
Число исследуемых глаз (n)	16	12	20	16
Средний возраст (годы)	26,6±5	69,3±3	66,2±5	67,8±4
Рефракция (дптр)	+0,75 до -3	+1,75 до -2,5	+1,5 до -3	+1,5 до -3
Допустимые сопутствующие офтальмологические заболевания	нет	начальная старческая катаракта		
Допустимые сопутствующие заболевания	нет	гипертоническая болезнь I стадии, ИБС: стенокардия напряжения ФК I		

медиаторов в жидких средах глаза и в крови у этих больных с учетом возрастных изменений практически не проводилось. В литературе отсутствуют работы по изучению вклада иммунной системы в развитие ПОУГ с ориентацией на факторы естественного старения.

Цель настоящей работы — выявить особенности инволюционных изменений, их возможный вклад в патологический процесс на основании сравнительного исследования цитокинового статуса в ходе естественного старения и при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ).

## Материалы и методы

Обследованы 64 человека (64 глаза) в возрасте от 21 до 72 лет, из них 16 человек (16 глаз) — молодые здоровые добровольцы (1-я группа; средний возраст 26,6±5 лет; «молодой» контроль); 12 человек (12 глаз) — практически здоровые люди пожилого возраста (2-я группа; средний возраст 69,3±3 года; «возрастной» контроль); 20 человек (20 глаз) с подозрением на ПОУГ (3-я группа; средний возраст 66,2±5 лет); 16 человек (16 глаз) с начальной стадией ПОУГ (4-я группа; средний возраст 67,8±4 года).

При отборе исследуемых лиц во 2, 3 и 4-ю группы допускалось наличие начальной катаракты, гипертонической болезни I стадии, ишемической болезни сердца в стадии клинической компенсации. Во всех группах предполагалось отсутствие другой выраженной офтальмологической и общесоматической патологии (табл. 1).

В 1-й и во 2-й группах для исследования брался правый глаз.

В 3-ю группу (подозрение на ПОУГ) вошли пациенты с показателями ВГД ≥ 21 мм рт.ст. при трех последующих измерениях, значения GPs (glaucoma probability score) при лазерной сканирующей томографии диска зрительного нерва на аппарате HRT-3 («Heidelberg Engineering GmbH», Dossenheim, Germany) от 0,36 до 0,60, с ранними периметриче-

скими изменениями в пределах возрастной нормы при проведении специальных программ, а также наличием косвенных клинических признаков, обнаруженных при стандартном офтальмологическом обследовании (дисперсия пигмента на радужке, частичная деструкция пигментной каймы, асимметрия морфофункциональных показателей) [39-44]. Больные с диагностированной стандартными офтальмологическими методами начальной стадией ПОУГ одного или обоих глаз, со значениями GPs больше 0,61 составили 4-ю группу. Пациенты, получавшие гипотензивную терапию, прекращали лечение за 2 недели до начала исследования. При наличии ПОУГ или подозрении на ПОУГ в обоих глазах для исследования брали глаз с худшими функциональными показателями. Материалом лабораторных исследований служили сыворотка крови (СК, n=64) и слезная жидкость (СЖ, n=64). СЖ была выбрана для исследования как наиболее доступный материал для условной оценки локального цитокинового статуса, а СК — для оценки этих же показателей на системном уровне. Пробы хранились при температуре -70°C. В каждой тест-пробе методом мультиплексного анализа определяли концентрацию 16 цитокинов различного биологического действия: интерлейкинов (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18); факторов некроза опухоли (TNF-α, TNF-β); интерферонов (IFN-α, IFN-γ); фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A); трансформирующего фактора роста (TGF-β1). Исследование цитокинов проводили на проточном цитометре BD FACS Canto II в программе BD FACS Diva, с помощью наборов CBA («BD Biosciences», USA), обработку данных осуществляли в программе FCAP Array («Soft Flow», USA).

Статистический анализ материала проводили в программе SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Распределение признака в исследуемых выборках подвергалось проверке. Для сравнения двух независимых групп использовали U-критерий Манна-Уитни; уровень статистической значимости:  $p < 0,05$ .

Результаты мультиплексного анализа цитокинов в сыворотке крови у пациентов с начальной стадией ПОУГ в сравнении с группами подозрения на ПОУГ, «возрастного» и «молодого» контроля, пг/мл

Цитокины	Группы										
	1-я «молодой» контроль (n=16)		2-я «возрастной» контроль (n=12)			3-я подозрение на ПОУГ (n=20)			4-я начальная ПОУГ (n=16)		
	частота, абс (%)	M±m	частота, абс. (%)	M±m		частота, абс. (%)	M±m		частота, абс. (%)	M±m	
IL-1β	7 (46,7)	17,5±5,5	2 (16,7)	0,65±0,5 p=0,04*	↓	15 (100)	70±3,9 p=0,001**	↑	10 (100)	74±3,8 p=0,001****	↑
IL-2	6 (40)	44,3±18,7	6 (50)	28,8±12,5		10 (66,7)	65,5±26		5 (50)	29±12,6	
IL-4	3 (20)	4,3±2,3	2 (16,7)	2,5±1,8		4 (26,7)	18,3±11		0	–	
IL-5	6 (40)	3,1±1,2	1 (8,3)	1,7±1,7		9 (60)	11,6±4,5 p=0,007**	↑	10 (100)	9,8±2,4 p=0,01****	↑
IL-6	8 (53,3)	7,2±3,2	12 (100)	9,2±0,4 p=0,03*	↑	6 (40)	2,2±1 p=0,001**	↓	1 (10)	0,3±0,3 p=0,001****	↓
IL-8	10 (66,7)	3066±1720	10 (83,3)	374,6±254,7		8 (53,3)	1861,6±1685		3 (30)	161,7±151	
IL-10	5 (33,7)	2,6±1,4	5 (41,7)	3,2±1,5		2 (13,3)	11,2±9,2		0	–	
IL-12p70	1 (6,7)	0,34±0,3	2 (16,7)	0,07±0,05		1 (6,7)	1,8±1,8		0	–	
IL-17A	3 (20)	2,9±2,4	2 (16,7)	2,9±2,2		6 (40)	41,5±19,3		3 (30)	7,6±4,6	
IL-18	16 (100)	1176,4±99	12 (100)	1114±107,4		15 (100)	907,9±70,6		10 (100)	936,6±76,5	
IFN-α	7 (46,7)	23,2±9,4	1 (8,3)	4±4,04 p=0,04*	↓	8 (53,3)	30,3±13 p=0,02**	↑	0	–	
IFN-γ	2 (13,3)	3,9±3,6	0	–		3 (20)	20±16		0	–	
TNF-α	7 (46,7)	5,6±2	5 (41,7)	5,1±3,3		5 (33,3)	15,6±9,5		3 (30)	4,2±3	
TNF-β	3 (20)	10,3±5,6	2 (16,7)	224,8±151,7		0	–		1 (10)	14,1±14	
VEGF-A	14 (93,3)	2565±778,5	12 (100)	1563±531,7		15 (100)	864±257,5		10 (100)	485,3±131,8	
TGF-β1	10 (62,5)	12182±1364	12 (100)	18131±1501 p=0,001*	↑	7 (35)	13203±2174 p=0,04**	↓	8 (50)	11019±1278 p=0,03***	↓

**Примечание:** \* — достоверность различия параметров между группами «молодого» и «возрастного» контроля; \*\* — между группами «возрастного» контроля и подозрения на ПОУГ; \*\*\* — между группами «возрастного» контроля и начальной стадией ПОУГ; \*\*\*\* — между группами подозрения на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ; ↑ ↓ — статистически значимое повышение или понижение параметра; n — число человек в группе.

## Результаты

Результаты мультиплексного анализа цитокинов у пациентов с начальной стадией ПОУГ в сравнении с группами подозрения на ПОУГ, «возрастным» и «молодым» контролем представлены в табл. 2 и 3.

В СК у практически здоровых молодых добровольцев (1-я группа) большинство цитокинов выявлялось в невысоких или минимальных кон-

центрациях; за исключением IL-8, IL-18 и ростовых факторов — TGF-β1 и VEGF-A (62,5-100% обнаружения). В СЖ в 81,8-100% случаев были обнаружены все исследованные цитокины в концентрациях, значительно превышавших их уровни в СК.

В ходе исследования системной продукции цитокинов во 2-й группе («возрастной» контроль) отмечены статистически значимые сдвиги от «молодого»

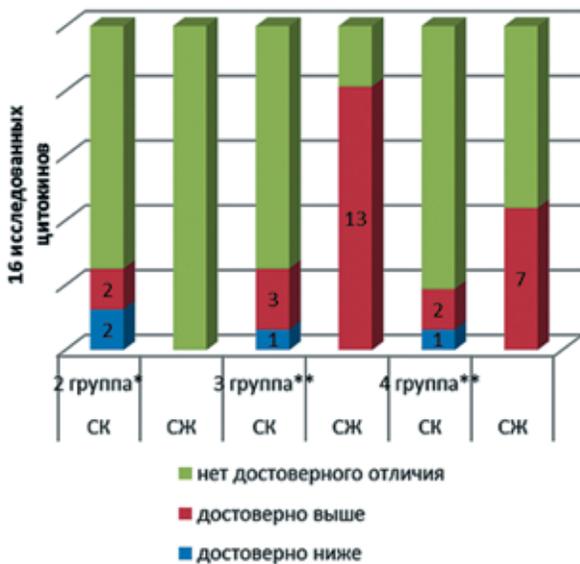


Рис. 1. Сдвиги от показателей групп контроля: \* — от показателей «молодого» контроля; \*\* — от показателей «возрастного» контроля (по числу из 16 исследованных цитокинов)

контроля 4-х цитокинов из 16 (рис. 1) — понижение концентрации IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$  и, напротив, повышение содержания IL-6, а также TGF- $\beta$ 1 при отсутствии IFN- $\gamma$  во всех пробах СК (табл. 2).

При анализе цитокинов в СЖ существенных различий между 1-й и 2-й контрольными группами не было выявлено (табл. 3).

Достоверные различия в показателях системного и местного цитокинового статуса обнаружены между группами «возрастного» контроля (2-я группа; пожилые здоровые люди), подозрения на ПОУГ (3-я группа) и начальной стадии ПОУГ (4-я группа).

Так, при исследовании СК у пациентов с подозрением на ПОУГ (3-я группа) отмечен статистически значимый сдвиг от «возрастной нормы» 5 цитокинов из 16, а именно: усиление продукции медиаторов воспаления IL-1 $\beta$ , IL-5, а также IFN- $\alpha$  (с тенденцией к повышению уровней IL-2, IL-4, IL-8, IL-17A, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) и снижение концентрации IL-6 и TGF- $\beta$ 1 (важнейшего иммунорегулятора); во всех тест-пробах отсутствовал TNF- $\beta$ .

При переходе в начальную стадию ПОУГ (табл. 2) имел место прогрессивный (статистически значимый) рост содержания провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-5 и дальнейшее снижение IL-6 и TGF- $\beta$ 1. Характерным для этой группы (начальная стадия ПОУГ) явилось отсутствие системной продукции IL-4, IL-10, IL-12p70, IFN- $\gamma$  и IFN- $\alpha$ .

Изменения цитокинового профиля СЖ в 3-й группе (подозрение на ПОУГ) носили резко выраженный характер относительно «возрастного» контроля и касались 14 из 16 цитокинов (рис. 1); исключение составили IL-8 и VEGF-A (табл. 3). Так, у пациентов с подозрением на ПОУГ (3-я группа) обнаружено статистически значимое повышение

концентрации IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1 (табл. 3).

Сравнительный анализ 2-й («возрастной» контроль) и 4-й (начальная ПОУГ) групп выявил достоверное повышение локальной продукции IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-12p70, IL-18, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , VEGF-A, TGF- $\beta$ 1 у пациентов с начальной стадией ПОУГ (табл. 3).

В ходе исследования ряда цитокинов обнаружена разнонаправленность местных и системных сдвигов: повышенная локальная секреция TNF- $\beta$  (3-я группа; подозрение на ПОУГ) и IL-4, IL-10, IL-12p70, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  (4-я группа; начальная ПОУГ), при отсутствии таковой на системном уровне в обеих группах. В целом это отражало дисбаланс между локальной и системной секрецией ряда иммунорегуляторных факторов.

Обобщение результатов показало, что у пациентов 3-й (с подозрением на глаукому) и 4-й (с начальной ПОУГ) групп имели место нарушения как местного, так и системного цитокинового статуса. При этом если на системном уровне сдвиги от «возрастной» нормы в этих группах затрагивали 4 и 5 цитокинов из 16 исследованных, то на локальном они касались их подавляющего большинства: 14 и 7 из 16 цитокинов соответственно.

## Обсуждение

Анализ полученных данных показал, что пожилой возраст, наличие подозрения на первичную глаукому и начальная стадия ПОУГ ассоциировались как с отсутствием, так и наличием более или менее выраженных сдвигов в системе цитокинов на местном и системном уровнях.

Характерным для группы «возрастного» контроля (2-я группа) по сравнению с «молодым» контролем (1-я группа) без офтальмопатологии явились статистически значимые сдвиги и только в системной продукции (на уровне глаза таковые отсутствовали) 4 из 16 исследованных цитокинов: IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IL-6 и TGF- $\beta$ 1.

Выявленное нами достоверное понижение концентрации IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , отсутствие секреции IFN- $\gamma$  при повышении содержания IL-6 и TGF- $\beta$ 1 в СК здоровых лиц пожилого возраста свидетельствовали о сдвигах преимущественно в сторону ослабления защитных факторов, в частности, системы интерферонов, дисбалансе цитокинов, регулирующих воспаление (IL-1 $\beta$  и IL-6), нарастании иммуносупрессорного компонента (повышение TGF- $\beta$ 1). Это согласуется с результатами работы А.А. Останина и Е.Р. Черных, отметивших более низкие уровни провоспалительных (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), а также Th-1 (IFN- $\gamma$ ) и Th-2 (IL-13) цитокинов в СК доноров старшей возрастной группы и установивших наличие статистически значимой обратной корреляционной взаимосвязи между возрастом доноров и концентрацией в сыворотке IL-7, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  [45].

Результаты мультиплексного анализа цитокинов в слезной жидкости у пациентов с начальной стадией ПОУГ в сравнении с группами подозрения на ПОУГ, «возрастного» и «молодого» контроля, пг/мл

Цитокины	Группы									
	1-я «молодой» контроль (n=16)		2-я «возрастной» контроль (n=12)		3-я подозрение на ПОУГ (n=20)			4-я начальная ПОУГ (n=16)		
	частота, абс. (%)	M±m	частота, абс. (%)	M±m	частота, абс. (%)	M±m		частота, абс. (%)	M±m	
IL-1β	16 (100)	76,8±22	12 (100)	85,3±31	20 (100)	252±60 p=0,0001**	↑	16 (100)	199,7±71 p=0,04***	↑
IL-2	16 (100)	528,9±144,8	12 (100)	492,8±140,5	20 (100)	1211±185,7 p=0,0001**	↑	16 (100)	1114,7±360,5	
IL-4	15 (85,5)	60,5±19	10 (83,3)	69±27,8	20 (100)	183,2±36,2 p=0,001**	↑	16 (100)	145,6±50	
IL-5	16 (100)	198,7±60,3	12 (100)	174±64	20 (100)	522,6±99 p=0,001**	↑	16 (100)	405,3±145,3 p=0,03***	↑
IL-6	16 (100)	21,6±5,8	12 (100)	23,3±7,7	20 (100)	74,7±15 p=0,001**	↑	16 (100)	66,4±21,7	
IL-8	16 (100)	1169,5±606,9	12 (100)	1302±473	20 (100)	3201±1745		16 (100)	1044±286	
IL-10	16 (100)	90,4±37,6	12 (100)	118,6±52,7	20 (100)	414±114 p=0,001**	↑	16 (100)	394,7±200	
IL-12p70	16 (100)	37,5±12,6	12 (100)	42±14,7	20 (100)	119,7±27 p=0,001**	↑	16 (100)	105,8±40,6 p=0,04***	↑
IL-17A	13 (86,4)	103,5±45	9 (75)	67,7±31	20 (100)	325±150 p=0,001**	↑	16 (100)	190±84,3 p=0,045****	
IL-18	16 (100)	494,5±130,7	12 (100)	586±220	20 (100)	1726±457 p=0,001**	↑	16 (100)	1392,3±512,3 p=0,03***	↑
IFN-α	16 (100)	68,3±10,4	12 (100)	171±68,4	19 (95)	552,8±138,6 p=0,001**	↑	16 (100)	475±182,3 p=0,02****	
IFN-γ	12 (81,8)	94,8±35,4	9 (75)	130±60,5	19 (95)	337±73 p=0,001**	↑	16 (100)	276,5±113,8	
TNF-α	16 (100)	72,4±16,2	12 (100)	94±42,5	20 (100)	198,8±41 p=0,001**	↑	16 (100)	132,7±45,8 p=0,02***	↑
TNF-β	16 (100)	88,8±43,6	11 (91,6)	169±117	20 (100)	535,6±197 p=0,01**	↑	16 (100)	392,2±202,3	↑
VEGF-A	16 (100)	5366,8±300	12 (100)	5249,5±644	20 (100)	6205±601		16 (100)	7239±515 p=0,05***	↑
TGF-β1	16 (100)	2664±78	12 (100)	2687±48	20 (100)	2786±93,7 p=0,04**	↑	16 (100)	2755±49 p=0,001***	↑

**Примечание:** \* — достоверность различия параметров между группами «молодого» и «возрастного» контроля; \*\* — между группами «возрастного» контроля и подозрения на ПОУГ; \*\*\* — между группами «возрастного» контроля и начальной стадией ПОУГ; \*\*\*\* — между группами подозрения на ПОУГ и начальной стадией ПОУГ; ↑ ↓ — статистически значимое повышение или понижение параметра; n - число человек в группе.

Данное обстоятельство, а также отмеченный нами факт отсутствия существенных различий в локальном цитокиновом статусе у здоровых добровольцев 1 и 2-й контрольных групп позволяют думать о возможной роли цитокинов в реализации системных механизмов физиологического старения.

Следует обратить внимание, что усиление системной продукции медиаторов воспаления IL-5 и IFN-α с «подключением» IL-1β (достоверный рост

уровня; частота обнаружения в СК — 100%) и снижение — IL-6 и TGF-β1 (статистически значимые изменения; при тенденции к повышению уровней IL-2, IL-4, IL-8, IL-17A, IFN-γ, TNF-α) в группе подозрения на глаукому поддерживалось и прогрессировало в дальнейшем при переходе в стадию начальной ПОУГ. Этот факт может указывать на определенную роль системных сдвигов IL-5, IFN-α и, в большей степени, IL-1β в «старте» и развитии ПОУГ.

Высокая концентрация IL-1 $\beta$  в СК больных ПОУГ была отмечена также в работе Т.Н. Тезелашвили [46]. Подчеркнем, что в патогенезе глаукомы задействован ряд иммунологических механизмов, опосредуемых IL-1 $\beta$ ; последние работы показывают, что данный медиатор, активируя матриксную металлопротеиназу-9 (MMP-9), способствует повреждению зрительного нерва в модели глаукомы на мышах [47]. IL-6 действует как провоспалительный и нейрпротекторный цитокин. В качестве антиапоптотического фактора IL-6 активирует Janus-киназы, что приводит к экспрессии различных стресс-зависимых факторов, включая белки теплового шока (HSP 70 и 90). Также было высказано предположение, что IL-6 защищает нейроны от N-метил-D-аспаратиндуцированной эксайтотоксичности [22].

Особое внимание привлекают существенные изменения локального цитокинового профиля в группах подозрения (3-я группа) и начальной ПОУГ (4-я группа) относительно «возрастного» контроля: данные сдвиги касались соответственно 14 и 7 цитокинов из 16 исследованных.

Отмеченное нами нарастание провоспалительного компонента, в частности, усиление секреции TNF- $\alpha$  на системном и главным образом на местном уровнях, согласуется с работами G. Tezel, показавшими роль TNF- $\alpha$  в гибели нейронов сетчатки при глаукоме, а также исследованиями M. Schwartz, G. Tezel и M.V. Wax, которые сформулировали теорию «вялотекущего воспаления» при данном заболевании [48].

Отдельного обсуждения, на наш взгляд, заслуживает достоверное, более чем в 3 раза, существенное повышение (гиперпродукция) уровня TNF- $\beta$  в СЖ в группе подозрения на глаукому по сравнению с таковой в группе здоровых лиц пожилого возраста. Тенденция к поддержанию высокой концентрации TNF- $\beta$  наблюдалась далее при переходе в стадию начальной ПОУГ.

TNF- $\beta$  (лимфотоксин- $\alpha$ ; семейство фактора некроза опухолей) является одним из продуктов активации Th-1 звена иммунитета; биологические свойства этого цитокина к настоящему времени раскрыты не полностью. Имеются данные о способности TNF- $\beta$  стимулировать рост фибробластов, приводя к повышению продукции глюкозаминогликанов, коллагена и белков основного вещества соединительной ткани, способствуя фиброобразованию (т. е. пролиферативный, «профибротический» эффект) [49].

Учитывая данное обстоятельство, нельзя исключить, что усиленная локальная секреция TNF- $\beta$  на этапе подозрения на глаукому и стадии начальной ПОУГ может вносить существенный вклад в запуск и прогрессию патологических изменений соединительнотканых (СТ) структур глаза.

Выявленное в ходе исследования статистически значимое повышение содержания IL-17 в СЖ у пациентов с подозрением на глаукому и поддержание

достаточно высокой его концентрации в начальной стадии заболевания по сравнению с группой «возрастного» контроля согласуются с данными работы R. Agarval и P. Agarval, также обнаруживших усиление продукции IL-17 в СЖ и ВГЖ больных с глаукомой [50]. Особая роль IL-17 — участие в аутоиммунном ответе, подъем его уровня может указывать на активацию аутоиммунных процессов; участие которых в развитии глаукомы, как известно, находит все больше подтверждений; последнее позволило ряду авторов выдвинуть гипотезу об аутоиммунном системном поражении СТ глаза при первичной глаукоме [18, 21, 22, 50].

Одним из важнейших иммунорегуляторных цитокинов, проявляющим преимущественно супрессорные эффекты, сдерживающим развитие аутоиммунных и пролиферативных процессов, является TGF- $\beta$ 1. Отмеченное в нашей работе снижение его концентрации в СК у пациентов с подозрением на глаукому (3-я группа) имело место и далее при переходе в начальную ПОУГ, что могло способствовать усилению иммунопатологических реакций и являлось индикатором нарушения иммунорегуляции. В то же время повышение содержания TGF- $\beta$ 1 в СЖ пациентов 3-й и 4-й групп, в сравнении с «возрастным» контролем, позволяет думать об активации процессов ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса, в которых, как известно, активно участвует TGF- $\beta$ 1 наряду с MMPs и их ингибиторами [51].

Также необходимо отметить достоверное повышение концентрации VEGF-A в СЖ пациентов группы начальной ПОУГ в сравнении с «возрастным» контролем. Предположение об участии сосудистых факторов и, в частности, VEGF-A в своей работе высказали P.L. Lip et al., которые выявили статистически значимый рост его уровня в плазме крови пациентов с ПОУГ и нормотензивной глаукомой по сравнению с контролем [52]. Имеются доказательства тесной взаимосвязи полиморфизмов гена VEGF-460 C/T с ПОУГ [53, 54]. Однако полученные в настоящем исследовании данные о динамике уровня VEGF-A нуждаются в дальнейшем подтверждении и анализе на большем клиническом материале.

Таким образом, в результате исследования представлена характеристика сдвигов в цитокиновом профиле на местном и системном уровнях у здоровых добровольцев молодого и пожилого возраста без офтальмопатологии, у пациентов при наличии подозрения на первичную глаукому и больных ПОУГ начальной стадии. Выявленные особенности возрастных и патологических изменений локальной и системной продукции цитокинов свидетельствуют о существенном отклонении направлений векторов развития ПОУГ и физиологического старения. Полученные данные позволяют думать, что нарушение цитокиновой регуляции на ранних этапах заболевания характерно для первичной глаукомы и начинается задолго до известных клинических проявлений

ПОУГ. Вышесказанное дает основание для дальнейших исследований, представляется важным для расшифровки предпосылок развития ПОУГ, позволяет предполагать возможность поиска ранних маркеров заболевания на доклиническом, функционально интактном этапе у пациентов групп риска.

## Литература / Reference

1. Нестеров А.П. Глаукома: основные проблемы, новые возможности. *Вестник офтальмологии* 2008; 124(1):3-5. [Nesterov A.P. Glaucoma: the main problems and new possibilities. *Vestn Oftalmol* 2008; 124(1):3-5. (In Russ.)].
2. Аветисов С.Э., Мамиконян В.Р., Казарян Э.Э., Шмелева-Демир О.А., Мазурова Ю.В., Рыжкова Е.Г. и др. Новый скрининговый метод определения толерантного внутриглазного давления. *Вестник офтальмологии* 2009; 125(5):3-7. [Avetisov S.E., Mamikonyan V.R., Kazaryan E.E., Shmeleva-Demir O.A., Mazurova Yu.V., Ryzhkova E.G. et al. New screening method for determining the tolerance of intraocular pressure. *Vestn Oftalmol* 2009; 125(5):3-7. (In Russ.)].
3. Аветисов С.Э., Мамиконян В.Р., Казарян Э.Э., Шмелева-Демир О.А., Галоян Н.С., Мазурова Ю.В. и др. Результаты клинической оценки нового скринингового метода определения индивидуальной нормы внутриглазного давления. *Вестник офтальмологии* 2010; 126(2):5-7. [Avetisov S.E., Mamikonyan V.R., Kazaryan E.E., Shmeleva-Demir O.A., Galoyan N.S., Mazurova Yu.V. et al. The results of the clinical evaluation of a new screening method for determining an individual rate of intraocular pressure. *Vestn Oftalmol* 2010; 126(2):5-7. (In Russ.)].
4. Куроедов А.В., Еричев В.П., Ходыкина Н.П., Городничий В.В. и др. О корреляционных взаимоотношениях между суточными колебаниями внутриглазного давления и морфометрической структурой диска зрительного нерва. *Офтальмология* 2006; 3(1):43-49. [Kuroedov A.V., Erichev V.P., Khodykina N.P., Gorodnichii V.V. et al. Correlation relationship between daily fluctuations in intraocular pressure and morphometric structure of the optic nerve. *Ophthalmology* 2006; 3(1):43-49. (In Russ.)].
5. Петров С.Ю., Антонов А.А., Макарова А.С., Вострухин С.В. Офтальмотонус в оценке медикаментозного и хирургического лечения глаукомы. РМЖ. *Клиническая офтальмология* 2015; 16(2):69-72. [Petrov S.Yu., Antonov A.A., Makarova A.S., Vostrukhin S.V. IOP in the assessment of medical and surgical treatment of glaucoma. *RMJ Clinical Ophthalmology* 2015; 16(2):69-72. (In Russ.)].
6. Quigley H.A., Broman A.T. The number of people with glaucoma world wide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006; 90(3):262-267. doi:10.1136/bjo.2005.081224.
7. Gordon M.O., Kass M.A. Ocular Hypertension Treatment Study Group. The Ocular Hypertension Treatment Study: Design and baseline description of the participants. *Arch Ophthalmol* 1999; 117:573-583. doi:10.1001/archophth.117.5.573.s.
8. Kass M.A., Gordon M.O., Gao F., Heuer D.K., Higginbotham E.J., Johnson C.A., Keltner J.K., Miller J.P., Parrish R.K., Wilson M.R. Ocular Hypertension Treatment Study Group. Delaying treatment of ocular hypertension: the ocular hypertension treatment study. *Arch Ophthalmol* 2010; 128(3):276-287. doi: 10.1001/archophthol.2010.20.
9. Armaly M.F., Krueger D.E., Maunder L., Becker B., Hetherington J. Jr., Kolker A.E., Levene R.Z., Maumenee A.E., Pollack I.P., Shaffer R.N. Biostatistical analysis of the collaborative glaucoma study. I. Summary report of the risk factors for glaucomatous visual-field defects. *Arch Ophthalmol* 1980; 98(12):2163-2171. doi:10.1001/archophth.1980.01020041015002.
10. Hyman L. Epidemiology of eye disease in the elderly. *Eye (Lond)* 1987; 1(2):330-341. doi: 10.1038/eye.1987.53.
11. Нестеров А.П., Черкасова И.Н. Роль факторов риска при диагностике открытоугольной глаукомы. *Вестник офтальмологии* 1987; 5:18-20. [Nesterov A.P., Cherkasova I.N. The role of risk factors in the diagnosis of open-angle glaucoma. *Vestn oftalmol* 1987; 5:18-20. (In Russ.)].
12. Куроедов А.В., Авдеев Р.В., Александров А.С., Бакунина Н.А. и др. Первичная открытоугольная глаукома: в каком возрасте пациента и при какой длительности заболевания может наступить слепота. *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности* 2014; 2(12):74-84. [Kuroedov A.V., Avdeev R.V., Aleksandrov A.S., Bakunina N.A. et al. Primary open-angle glaucoma: the age at which the patient and duration of disease which may occur blindness. *Medical and biological problems of life* 2014; 2(12):74-84. (In Russ.)].
13. Авдеев Р.В., Александров А.С., Бакунина Н.А., Басинский А.С. и др. Модель манифестирования и исходов первичной открытоугольной глаукомы. *Клиническая медицина* 2014; 92(12):64-72. [Avdeev R.V., Aleksandrov A.S., Bakunina N.A., Basinskii A.S. et al. Model of outcomes of primary open angle glaucoma. *Clinical medicine* 2014; 92(12):64-72. (In Russ.)].
14. Авдеев Р.В., Александров А.С., Бакунина Н.А., Басинский А.С. и др. Прогнозирование продолжительности сроков заболевания и возраста пациентов с разными стадиями первичной открытоугольной глаукомы. *Национальный журнал глаукома* 2014; 13(2):60-69. [Avdeev R.V., Aleksandrov A.S., Bakunina N.A., Basinskii A.S. et al. Prediction of the duration of the disease and the age of patients with different stages of primary open-angle glaucoma. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma* 2014; 13(2):60-69. (In Russ.)].
15. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Ганковская О.А., Дугина А.Е. Интерлейкин-17 и его возможное участие в репаративных процессах при глаукоме. *Глаукома* 2009; 1:23-25. [Erichev V.P., Gankovskaya L.V., Kovalchuk L.V., Gankovskaya O.A., Dugina A.E. Interleukin-17 and it's possible role in reparative processes in glaucoma. *Glaucoma* 2009; 1:23-25. (In Russ.)].
16. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009; 308-311. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. *Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii* [Manual of clinical immunology.] Moscow: Geotar-media, 2009; 308-311. (In Russ.)].
17. Gramlich O.W., Beck S., von Thun Und Hohenstein-Blaul N., Boehm N., Ziegler A., Vetter J.M., Pfeiffer N., Grus F.H. Enhanced insight into the autoimmune component of glaucoma: IgG autoantibody accumulation and pro-inflammatory conditions in human glaucomatous retina. *PLoS One*. 2013; 8(2): e57557. doi: 10.1371/journal.pone.0057557.
18. Kuchtey J., Kunkel J., Burgess L.G., Parks M.B., Brantley M.A. Jr., Kuchtey R.W. Elevated transforming growth factor  $\beta$ 1 in plasma of primary open-angle glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(8):5291-5297. doi: 10.1167/iov.14-14578.
19. Trivedi R.H., Nutaitis M., Vroman D., Crosson C.E. Influence of race and age on aqueous humor levels of transforming growth factor-beta 2 in glaucomatous and nonglaucomatous eyes. *J Ocul Pharmacol Ther* 2011; 27(5):477-480. doi: 10.1089/jop.2010.0100.
20. Takai Y., Tanito M., Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53:241-247. doi: 10.1167/iov.11-8434.
21. Chua J., Vania M., Cheung C.M., Ang M., Chee S.P., Yang H., Li J., Wong T.T. Expression profile of inflammatory cytokines in aqueous from glaucomatous eyes. *Mol Vis* 2012; 18:431-438.
22. Kiecolt-Glaser J.K., Preacher K.J., MacCallum R.C., Atkinson C., Malarkey W.B., Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(15):9090-9095. doi: 10.1073/pnas.1531903100.
23. Sawada H., Fukuchi T., Tanaka T., Abe H. Tumor necrosis factor-alpha concentrations in the aqueous humor of patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(2):903-906. doi: 10.1167/iov.09-4247.
24. Muñoz-Fernández M.A., Fresno M. The role of tumour necrosis factor, interleukin -6, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase in the development and pathology of the nervous system. *Prog Neurobiol* 1998; 56(3):307-340. doi:10.1016/S0301-0082(98)00045-8.
25. Ertel W., Keel M., Bonaccio M., Steckholzer U., Gallati H., Kenney J.S., Trentz O. Release of anti-inflammatory mediators after mechanical trauma correlates with severity of injury and clinical outcome. *J Trauma* 1995; 39(5):879-887.
26. Shohami E., Bass R., Wallach D., Yamin A., Gallily R. Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) activity in rat brain is associated with cerebroprotection after closed head injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16(3):378-384. doi:10.1097/00004647-199605000-00004.

27. Liu T., Clark R.K., McDonnell P.C., Young P.R., White R.F., Barone F.C., Feuerstein G.Z. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke* 1994; 25(7):1481-1488.
28. Nakazawa T., Nakazawa C., Matsubara A., Noda K., Hisatomi T., She H., Michaud N., Hafezi-Moghadam A., Miller J.W., Benowitz L.I. Tumor necrosis factor-alpha mediates oligodendrocyte death and delayed retinal ganglion cell loss in a mouse model of glaucoma. *J Neurosci* 2006; 26(49):12633-12641. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2801-06.2006.
29. Tezel G., Wax M.B. Increased production of tumor necrosis factor-alpha by glial cells exposed to simulated ischemia or elevated hydrostatic pressure induces apoptosis in cocultured retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2000; 20(23):8693-8700.
30. Tezel G., Li L.Y., Patil R.V., Wax M.B. TNF-alpha and TNF-alpha receptor-1 in the retina of normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(8):1787-1794.
31. Yuan L., Neufeld A.H. Activated microglia in the human glaucomatous optic nerve head. *J Neurosci Res* 2001; 64(5):523-532.
32. Yuan L., Neufeld A.H. Tumor necrosis factor-alpha: a potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000; 32(1):42-50. doi: 10.1002/1098-1136(200010)32:1.
33. Yan X., Tezel G., Wax M.B., Edward D.P. Matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor alpha in glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 2000; 118(5):666-673. doi:10.1001/archophth.118.5.666.
34. Kuchtey J., Rezaei K.A., Jaru-Ampornpan P., Sternberg P. Jr., Kuchtey R.W. Multiplex cytokine analysis reveals elevated concentration of interleukin-8 in glaucomatous aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(12):6441-6447. doi: 10.1167/iov.10-5216.
35. Zhou X., Xia X.B. Retinal stem cells transplantation combined with copolymer-1 immunization reduces interferon-gamma levels in an experimental model of glaucoma. *Int J Ophthalmol* 2011; 4(6):594-598. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2011.06.04.
36. Чередниченко Л.П., Барычева Л.Ю., Берновская А.А. Определение провоспалительных цитокинов в ранней диагностике первичной открытоугольной глаукомы. *Российский офтальмологический журнал* 2013; 2:82-85. [Cherednichenko L.P., Baricheva L.Y., Bernovskaya A.A. Determination of proinflammatory cytokines in the early diagnosis of primary open angle glaucoma. *Russian Ophthalmol J* 2013; 2:82-85. (In Russ.)].
37. Ляшенко А.А. Цитокины и молекулярные основы заболеваний старческого возраста. *Клиническая геронтология* 2003; 3:45-54. [Lyashenko A.A. Cytokines and molecular basis of age diseases. *Clinical gerontology* 2003; 3:45-54. (In Russ.)].
38. Куроедов А.В., Городничий В.В. Компьютерная ретинография (HRT): диагностика, динамика, достоверность. Москва: Столичный бизнес, 2007; 231 с. [Kuroedov A.V., Gorodnichiy V.V. Komp'yuternaya retinografiya (HRT): diagnostika, dinamika, dostovernost'. [Computed tomography (HRT): diagnostics, dynamics, authenticity.] Moscow, Stolichniy bisnes, 2007; 231 p. (In Russ.)].
39. Alencar L.M., Bowd C., Weinreb R.N., Zangwill L.M., Sample P.A., Medeiros F.A. Comparison of HRT-3 glaucoma probability score and subjective stereophotograph assessment for prediction of progression in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(5):1898-1906. doi: 10.1167/iov.07-0111.
40. Егорова И.В., Шамшинова А.М., Еричев В.П. Функциональные методы исследования в диагностике глаукомы. *Вестник офтальмологии* 2001; 117(6):38-40. [Egorova I.V., Shamshinova A.M., Erichev V.P. Functional methods in the glaucoma diagnostics. *Vestn Oftalmol* 2001; 117(6):38-40. (In Russ.)].
41. Брежнев А.Ю., Курышева Н.И., Трубилин В.Н., Баранов В.И. Проблемы ранней клинической диагностики псевдоэкзофталмического синдрома. *Офтальмология* 2012; 9(1):49-52. [Brezhnev A.Yu., Kuryшева N.I., Trubilin V.N., Baranov V.I. Problems of early clinical diagnosis of the pseudoexfoliative syndrome. *Ophthalmology* 2012; 9(1):49-52. (In Russ.)].
42. Еричев В.П., Петров С.Ю., Козлова И.В., Макарова А.С. и др. Современные методы функциональной диагностики и мониторинга глаукомы. Часть 1. Периметрия как метод функциональных исследований. *Национальный журнал глаукома* 2015; 14(2):75-81. [Erichev V.P., Petrov S.Yu., Kozlova I.V., Makarova A.S. et al. Modern methods of functional diagnostics and monitoring of glaucoma. Part 1. Perimetry as a functional diagnostics method. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma* 2015; 14(2):75-81. (In Russ.)].
43. Еричев В.П., Петров С.Ю., Макарова А.С., Козлова И.В. и др. Современные методы функциональной диагностики и мониторинга глаукомы. Часть 2. Диагностика структурных повреждений сетчатки и зрительного нерва. *Национальный журнал глаукома* 2015; 14(3):72-79. [Erichev V.P., Petrov S.Yu., Kozlova I.V., Makarova A.S. et al. Modern methods of functional diagnostics and monitoring of glaucoma. Part 2. Diagnosis of structural damage of the retina and optic nerve. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma* 2015; 14(3):72-79. (In Russ.)].
44. Останин А.А., Черных Е.Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флюориметрии. *Цитокины и воспаление* 2005; 4 (2):25-32. [Ostanin A.A., Chernikh E.R. Comparative analysis of 17 cytokines in serum and whole blood of healthy donors by flow fluorometry. *Cytokini I vospalenie* 2005; 4(2):25-32. (In Russ.)].
45. Петров С.А., Тезелашвили Т.Н., Костоломова Е.Г. Влияние цитокинов сыворотки крови на термометрические характеристики глаза при первичной глаукоме. *Российский иммунологический журнал* 2012; 6(14), 3(1):126-129. [Petrov S.A., Tezelashvili T.N., Kostolomova E.G. Influence of serum cytokines in the thermometric characteristics of the eye in primary glaucoma. *Rossiyskiy immunologicheskij jurnal* 2012; 6(14), 3(1): 126-129. (In Russ.)].
46. Zhang X., Chintala S.K. Influence of interleukin-1 beta induction and mitogen-activated protein kinase phosphorylation on optic nerve ligation-induced matrix metalloproteinase-9 activation in the retina. *Exper Eye Res* 2004; 78(4):849-860.
47. Tezel G., Wax M.B. Glaucoma. *Chem Immunol Allergy* 2007; 92: 221-227.
48. Новиков Д.К., Генералов И.И., Данющенко Н.М. Медицинская микробиология. Витебск, 2010; 597 с. [Novikov D.K., Generalov I.I. Danyushenkova N.M. Medicinskaya Mikrobiologiya. [Medical Microbiology]. Vitebsk, 2010; 597 p. (In Russ.)].
49. Agarwal R., Agarwal P. Glaucomatous neurodegeneration: An eye on tumor necrosis factor — alpha. *Indian J Ophthalmol* 2012; 60(4):255-261. doi:10.4103/0301-4738.98700.
50. Страхов В.В. Патогенез первичной глаукомы — «все или ничего». *Глаукома* 2009; 2:40-52. [Strakhov V.V. The pathogenesis of primary glaucoma — «all or nothing». *Glaucoma* 2009; 2:40-52. (In Russ.)].
51. Robertson J.V., Siwakoti A., West-Mays J.A. Altered expression of transforming growth factor beta 1 and matrix metalloproteinase-9 results in elevated intraocular pressure in mice. *Mol Vis* 2013; 19:684-695.
52. Lip P.L., Felmeden D.C., Blann A.D., Matheou N., Thakur S., Cunliffe I.A., Lip G.Y. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(11):1299-302. doi:10.1136/bjo.86.11.1299.
53. Кириленко М.Ю. Исследование полиморфизмов генов факторов роста с развитием первичной открытоугольной глаукомы. *Фундаментальные исследования* 2013; 12(2):222-225. [Kirilenko M.Y. Study of gene polymorphisms of growth factors to the development of primary open angle glaucoma. *Fundamental'nie issledovaniya* 2013; 12 (2):222-225. (In Russ.)].
54. Lin H.J., Chen W.L., Chen T.H., Kung Y.J., Wan L. Vascular endothelial growth factor -460 C/T BstUI gene polymorphism is associated with primary open-angle glaucoma. *Biomedicine (Taipei)* 2014; 4:4. doi: 10.7603/s40681-014-0004-3.

Поступила 19.06.2015