

РОЛЬ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОПТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ ПРИ НОРМОТЕНЗИВНОЙ ГЛАУКОМЕ

Лихванцева В.Г., д.м.н., профессор кафедры офтальмологии¹;

Габиров А.Г., член-корр. РАН, доктор химических наук, профессор, руководитель лаборатории²;

Соломатина М.В., аспирант³;

Белогуров А.А., кандидат химических наук, старший научный сотрудник²;

Коростелёва Е.В., аспирант³;

Выгодин В.А., заведующий отделом⁴.

¹ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра офтальмологии, 119192, Российская Федерация, Москва, Ломоносовский просп., д. 31, корпус 5;

²ФГБУ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», лаборатория биокатализа, 117997, Российская Федерация, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10;

³ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», кафедра глазных и ЛОР болезней, 390024, Российская Федерация, Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9;

⁴ФГБУ «ГНИЦ профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел современных методов статистического анализа, 101990, Москва, Петроверигский пер., д. 10.

Исследования проведены при грантовой поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований РАН (Регистрационный номер гранта 09-04-12123-офи_м). Конфликт интересов: отсутствует.

Резюме

ЦЕЛЬ. Изучение роли иммунных реакций в механизмах оптической нейропатии при нормотензивной глаукоме.

МЕТОДЫ. Изучали серологические показатели аутоантител (АТ) в крови пациентов с нормотензивной глаукомой (НТГ, n=31); которые сопоставляли с данными при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ, n=30). Контрольную группу составили 25 соматически здоровых лиц без офтальмопатологии и клинических признаков системных аутоиммунных заболеваний. Для иммунологических исследований использовали широкий спектр аутоантигенов: ENO-1, MBP, NSE, Тβ4, α-кристаллин, родопсин, GAPDH, актин, α-фодрин. Реакции антителообразования в сыворотке крови оценивали методом иммуноферментного анализа. Концентрацию антител в сыворотке отражал спектрофотометрический показатель, который выражался в условных единицах оптической плотности.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Выявили нарушения системного иммунитета при обеих формах глаукомы. При НТГ снижался уровень АТ к родопсину с $1,13 \pm 0,13$ (Mean±SD) до $0,91 \pm 0,19$ ($p=0,00002$, $r<0,001$), к α-фодрину с $0,39 \pm 0,17$ до $0,26 \pm 0,11$ ($p=0,00107$, $r<0,01$), к ENO1 с $0,56 \pm 0,19$ до $0,28 \pm 0,09$ ($r<0,001$), актину с $0,50 \pm 0,21$ до $0,36 \pm 0,14$ ($p=0,00428$, $r<0,01$) и NSE с $0,37 \pm 0,08$ до $0,29 \pm 0,10$ ($p=0,00201$, $r<0,01$). При этом повышались уровни аутоантител к α-кристаллину с $0,29 \pm 0,16$ до $1,14 \pm 0,18$ ($r<0,001$).

Нарушения системного иммунитета при ПОУГ заключались в: снижении уровня АТ к ENO1 с $0,56 \pm 0,19$ до $0,36 \pm 0,14$ ($r<0,001$), Тβ4 с $0,23 \pm 0,11$ до $0,16 \pm 0,03$ ($p=0,00205$, $r<0,01$), актину — с $0,50 \pm 0,21$ до $0,33 \pm 0,10$ ($p=0,00078$, $r<0,001$) и АТ к α-фодрину с $0,39 \pm 0,17$ до $0,30 \pm 0,09$ ($p=0,01513$, $r<0,05$). При этом повышались уровни АТ к α-кристаллину с $0,29 \pm 0,16$ до $1,14 \pm 0,38$ ($r<0,001$).

Принципиальные отличия показателей аутоиммунитета НТГ от ПОУГ заключались в снижении уровня антителообразования к родопсину (достоверность межгрупповых различий $p=0,00085$, $r<0,001$) и отсутствии изменений со стороны показателей АТ к Тβ4. Наряду с этим, при НТГ наблюдали более выраженное снижение показателей АТ к ENO-1 ($p<0,001$), NSE ($p=0,00201$, $r<0,01$) и α-фодрину ($p=0,00107$, $r<0,01$), а при ПОУГ — выраженное снижение АТ к Тβ4 ($p=0,00205$, $r<0,01$) и актину ($p=0,00078$, $r<0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Выявлены комплексные нарушения молекулярного и иммунного гомеостаза при НТГ. Они проявлялись снижением системной продукции АТ к актину и α-фодрину, отвечающим за сохранность цитоскелета в нейрональных клетках, АТ к NSE и ENO-1, являющимися маркерами повреждения нервных клеток, и АТ к MBP — маркеру демиелинизации.

В качестве серологических маркеров иммунодиагностики оптической нейропатии при НТГ и ПОУГ могут быть предложены АТ к АГ нейрональной дифференцировки: ENO-1 и NSE.

Обнаружены принципиальные различия в мишенях аутоиммунной агрессии при разных формах глаукомы: при НТГ мишенью служат фоторецепторы сетчатки; при ПОУГ — ганглиозные клетки. Предположительно, выбор мишени аутоиммунной агрессии при разных формах глаукомы определяется характером гемодинамических нарушений, индуцирующих ишемизацию внутренних или наружных слоев сетчатки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нормотензивная глаукома, оптическая нейропатия, аутоиммунитет, сывороточные антитела, апоптоз.

Для контактов:

Коростелёва Екатерина Викторовна, e-mail: ekaterina---@list.ru

ENGLISH

THE ROLE OF IMMUNE REACTIONS IN THE PATHOGENESIS OF OPTIC NEUROPATHY IN NORMAL TENSION GLAUCOMA

LIKHVANTSEVA V.G., Med.Sc.D., Professor¹;

GABIBOV A.A., Corresponding Member of RAS, Sc.D., Professor, Head of Biocatalysis Laboratory²;

SOLOMATINA M.V., Postgraduate³;

BELOGUROV A.A., Ph.D., Senior Research Associate²;

KOROSTELEVA E.V., Postgraduate³;

VYGODIN V.A., Head of Department⁴.

¹Department of Fundamental medicine of M.V. Lomonosov Moscow State University, Ophthalmology Department, 31/5 Lomonosovskii ave., Moscow, Russian Federation, 119192;

²Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS (IBCh RAS), 16/10 Mikloukko-Maclay st., Moscow, Russian Federation, 117997;

³Ryazan State Medical University, The Department of eye and ENT diseases, 9 Vysokovoltnaya st., Ryazan, Russian Federation, 390026;

⁴Institution of Scientific Research Center of prophylactic medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, 10 Petroverigskii lane, Moscow, Russian Federation, 101990.

Research conducted at the grant support of the Russian Foundation for Basic Research (grant # 09-04-12123 -офи_м).

Conflicts of Interest: none declared.

Abstract

PURPOSE: To analyze molecular and immunological mechanisms of optic neuropathy development in patients with normal tension glaucoma.

METHODS: We have been studying serologic indicators of autoantibodies (AB) in patients with normal tension glaucoma (NTG, n=31), which were compared to corresponding parameters in patients with primary open-angle glaucoma (POAG, n=30). The control group consisted of 25 somatically healthy individuals without ophthalmic pathology and clinical symptoms of systemic autoimmune diseases. For the immunological part of the research we used a wide range of antigens: ENO-1, MBP, NSE, T β 4, α -crystallin, rhodopsin, GAPDH, actin, α -fodrin. The antibody formation in blood serum was determined with the use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Antibodies concentration in the blood serum was reflected in a spectrophotometric indicator measured in standard units of optical density.

RESULTS: Systemic immune disorders in patients with both forms of glaucoma were revealed. In the NTG group the level of AB to rhodopsin decreased from 1.13 \pm 0.13 (Mean \pm SD) to 0.91 \pm 0.19 (p=0.00002, p <0.001), to α -fodrin — from 0.39 \pm 0.17 to 0.26 \pm 0.11 (p=0.00107, p <0.01), to ENO1 — from 0.56 \pm 0.19 to 0.28 \pm 0.09 (p<0.001), to actin — from 0.50 \pm 0.21 to 0.36 \pm 0.14 (p=0.00428, p <0.01) and NSE — from 0.37 \pm 0.08 to 0.29 \pm 0.10 (p=0.00201, p<0.01). At the same time AB levels to α -crystallin increased from 0.29 \pm 0.16 to 1.14 \pm 0.18 (p <0.001).

Immune disorders in the POAG group were expressed by: the decrease of AB to ENO1 level from 0.56 \pm 0.19 to 0.36 \pm 0.14 (p<0.001), T β 4 — from 0.23 \pm 0.11 to 0.16 \pm 0.03 (p=0.00205, p<0.01), actin — from 0.50 \pm 0.21 to 0.33 \pm 0.10 (p=0.00078, p<0.001) and of AB to α -fodrin — from 0.39 \pm 0.17 to 0.30 \pm 0.09

(p=0.01513, p<0.05). Meanwhile, AB levels increased in response to α -crystallin from 0.29 \pm 0.16 to 1.14 \pm 0.38 (p<0.001).

The most significant differences in autoimmune indicators between NTG and POAG patients consisted in decrease of AB to rhodopsin level (reliability of intergroup distinctions p=0.00085, p<0.001) and the absence of changes in the levels of AB to T β 4. In the NTG group we observed a more pronounced decrease in AB serologic indicators to ENO-1 (p<0.001), NSE (p=0.00201, p<0.01) and α -fodrin (p=0.00107, p<0.01), and in the POAG group — a more expressed decrease in AB to T β 4 (p=0.00205, p<0.01) and actin (p<0.001).

CONCLUSION: Complex disorders of immune and molecular homeostasis have been revealed in the NTG group. The study revealed a decreased production of AB to actin, α -fodrin, which are responsible for safety of the neuron cells cytoskeleton, AB to NSE and ENO-1, the markers of nerve cell damage, and to MBP — a marker of demyelination.

AB to neuron differentiation antigens — ENO-1 and NSE — can be proposed as serologic markers of optic neuropathy immunodiagnosics in patients with NTG and POAG.

Basic distinctions in targets of autoimmune aggression are found in patients with different forms of glaucoma: photoreceptor cells of the retina serve as a target of apoptosis in the NTG group, while in the POAG group the main target is represented by the retinal ganglion cells. Presumably, the target choice for autoimmune aggression in different forms of glaucoma is determined by the nature of the hemodynamic disorders that cause ischemia of either inner or outer layers of the retina.

KEYWORDS: normal tension glaucoma, optic neuropathy, autoimmunity, serum antibodies, apoptosis.

В последние годы появилось много публикаций, подтверждающих роль aberrантно-го аутоиммунитета в патогенезе нормотензивной глаукомы и глаукомной оптической нейропатии (ГОН) [1, 2]. Установлено, что многие структуры и ткани глаза, такие как хрусталик, сетчатка, зрительный нерв, экспрессируют широкий спектр антигенов (АГ), способных индуцировать аутоиммунные реакции [3]. Высокая степень консервативности пространственной конфигурации делает эти уникальные АГ возможными мишенями для собственной иммунной системы. Пусковыми факторами могут служить: нарушение сосудистой перфузии, гормональный дисбаланс, офтальмо-гипертензия, окислительный стресс, внедрение инфекционных агентов и даже некоторые физиологические процессы, например, старение [4]. Аутоиммунные реакции запускают каскад событий, исходом которых является гибель ганглиозных и фоторецепторных клеток сетчатки и их аксонов.

Подавляющее большинство работ иммунологической направленности имеют фундаментальное значение [5-8]. Их целью является расширение и углубление наших представлений о роли тех или иных иммунных механизмов в патогенезе глаукомы. Примерно треть публикаций посвящены поиску надежных серологических маркеров ранней диагностики или прогноза ГОН и/или нормотензивной глаукомы [9-13]. В этих работах авторы, беря за основу иммунологическую диагностику нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, ишемические инсульты и др., проводят собственные исследования с поиском корреляций между стадией глаукомы и количественными показателями маркеров нейродегенеративных заболеваний в сыворотке крови. В совокупности эти работы охватывают широкий спектр АГ; среди них АГ к АГ зрительного нерва [14] и сетчатки, в том числе к родопсину [11], к гликозаминогликанам, белкам теплового шока [10], нейронспецифической энолазе (NSE) [9], глутатион S-трансферазе [1], α -фодрину [12], фосфатидилсерину [15]. Большинство этих исследований подтверждают aberrантность иммунной системы у больных глаукомой. Это проявляется избыточным антителообразованием или, напротив, его дефицитом [5]. Не вызывает сомнений тот факт, что аномально высокий уровень реакций антителообразования делает аутоантитела механизмом агрессии, запуская цитодеструктивные процессы через систему комплемента. Результаты протеомных и иммуногистохимических исследований подтверждают факт ранней активации системы комплемента в экспериментальных моделях глаукомы [16]. Активация комплемента предшествует апоптозу ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) при глаукоме [17]. В то же время многие авторы отмечают, что судьба ГКС определяется не столько

сигналами к запуску апоптоза, сколько балансом про- и антиапоптотических механизмов. К сожалению, иммунные механизмы антиапоптотической защиты ГКС сегодня практически не изучены. Имеются единичные исследования, доказывающие факты ингибирования апоптоза нервных клеток с помощью аутоантител (аутоАТ). Так, протекторной функцией наделяют АТ к тимозину (Т β 4), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (GAPDH) и α -фодрину. В этом аспекте представляет научно-практический интерес серологическое картирование этих АТ в комплексе с маркерами нейродегенеративных процессов у больных с нормотензивной глаукомой.

Цель исследования — провести серологическое картирование антител и изучить молекулярно-иммунологические механизмы оптической нейропатии, ассоциированной с нормотензивной глаукомой.

Материалы и методы

Изучали количественные показатели аутоАТ в крови пациентов с нормотензивной глаукомой (НТГ, n=31), первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ, n=30). Распределение пациентов по стадиям указано в табл. 1. Стадию глаукомы выставляли в соответствии с правилами статистического анализа системных проявлений билатеральных заболеваний парных органов по худшему глазу. Статистически значимых различий между группами НТГ и ПОУГ не выявлено. Возраст пациентов варьировал в широком диапазоне от 51 года до 84 лет. Средний возраст больных НТГ составил $65,17 \pm 1,28$ года ($M_{cp} = M \pm m$), при ПОУГ — $67,95 \pm 0,97$. Диагноз глаукомы устанавливали в соответствии с международными стандартами диагностики глаукомы [18].

Контролем служили 25 человек с сохраненными зрительными функциями, отсутствием офтальмопатологии и клинических признаков системных аутоиммунных заболеваний. Средний возраст в контрольной группе составил $65,49 \pm 2,00$. Статистически средний возраст пациентов в группах НТГ, ПОУГ и контроля не различался.

Для иммунологических исследований использовали широкий спектр аутоантигенов.

Таблица 1

Распределение пациентов по стадиям глаукомы

Стадия глаукомы	НТГ (n=31)	ПОУГ (n=30)
I стадия	13	9
II стадия	10	12
III-IV стадии	8	9

Выбор нами АГ маркеров определялся их установленной ролью в метаболических (NSE, ENO-1 и MBP) и фотохимических (родопсин и α -кристаллин) процессах, протекающих в тканях нейрональной дифференцировки, к которым относится зрительный анализатор в целом и глаз в частности. Дополнительно были взяты универсальные маркеры антиапоптотической защиты клетки: актин, α -фодрин, Т β 4 и GAPDH. Все реактивы были предоставлены фирмой Abcam (Cambridge, UK).

Ниже представлены характеристики и функции маркеров.

Нейроспецифическая эналаза (NSE) — гликолитический фермент, присутствующий в цитоплазме клеток нейроэктодермального происхождения, нейронов головного мозга и периферической нервной ткани. NSE — маркер всех высокодифференцированных нейронов. Концентрация этого белка в спинномозговой жидкости и/или сыворотке крови отражает характер повреждений нейронов и нарушений гематоэнцефалического барьера, коррелирует с клиническим статусом и используется в аспекте прогноза при таких заболеваниях, как ишемический инсульт, болезнь Альцгеймера и Паркинсона.

ENO-1 (эналаза-1) — гликолитический фермент, одна из трех его изоформ встречается в ядре и цитоплазме клеток эукариотов. Выходя в системный кровоток, связывается с плазминогеном, меняя реологические свойства крови. ENO-1 признан маркером энцефалопатии Хашимото, а также нейродегенеративных заболеваний, протекающих с аутоиммунными реакциями, например, ретинопатии недоношенных и диабетической ретинопатии.

MBP (основной белок миелина) — один из главных белков центральной нервной системы, составляет 30% общего содержания протеинов в миелине. Различают его растворимую фракцию, присутствующую в цитоплазме олигодендроцитов, и нерастворимую, мембранную, входящую в состав миелина. MBP играет важную роль в организации, сборке и поддержании структурной целостности миелина. Он обеспечивает компактность миелиновых оболочек и проведение нервного импульса. В функции MBP входят: стимуляция роста астроглии, элементов соединительной ткани, инактивация ингибиторов сериновых протеиназ — антитрипсина и микроглобулина. Применение MBP в качестве маркера деструкции миелина открыло новое направление в нейробиологии, посвященное диагностике демиелинизирующих заболеваний, включая рассеянный склероз, травмы головного мозга, воспалительные и опухолевые процессы в нервной ткани, преимущественно затрагивающие ее глиальный компонент [19, 20].

Кристаллины — общее название название семейства белков, входящих в состав хрусталика. Как было недавно установлено, они также экспрессируются в нескольких экстраклеточных тканях, включая сетчатку. Выделяют α -, β - и γ -кристаллины.

α -кристаллины играют важную роль в поддержании прозрачности хрусталика. Являясь представителем семейства малых белков теплового шока, α -кристаллин обладает шапероноподобной активностью, способностью к образованию устойчивых растворимых комплексов с денатурированными белками, подавляя их агрегацию. Его главная функция заключается в защите β - и γ -кристаллинов от ультрафиолетового облучения и окислительного стресса, повреждающих эти белки. Образование α/γ и α/β комплексов в хрусталике играет важную роль в поддержании его прозрачности и светопреломляющих оптических свойств. Шапероноподобная активность α -кристаллина зависит от многих факторов, включая температуру и концентрацию. В условиях патологии и фотостресса развивается гиперэкспрессия α -кристаллина. При этом нарушается толерантность к нему, формируются АТ, которые могут индуцировать и поддерживать аутоиммунные реакции в различных тканях глаза, включая сетчатку. Доказано, что этот молекулярно-биологический механизм изначально имеет защитно-адаптационный характер и предназначен для защиты органа зрения от фотостресса.

Родопсин представляет собой высокомолекулярное соединение, состоящее из ретиналя — альдегида витамина А и белка опсина. При действии кванта света происходит цикл фотофизических и фотохимических превращений этого вещества: ретиналь изомеризуется, его боковая цепь выпрямляется, связь ретиналя с белком нарушается, активируются ферментативные центры белковой молекулы. При этом вначале образуются некоторые промежуточные вещества — люмиродопсин и метародопсин, после чего ретиналь отщепляется от опсина. Под влиянием фермента, названного редуктазой ретиналя, последний переходит в витамин А.

Регенерация зрительного пурпура, или ресинтез родопсина, происходит в темноте. Фотохимические процессы в сетчатке происходят весьма экономно, т. е. при действии даже очень яркого света расщепляется только небольшая часть имеющегося в палочках родопсина. При массивном фотострессе расщепление родопсина превосходит возможности его ресинтеза, в связи с чем может нарушаться толерантность к компонентам этого зрительного белка и формируются АТ к нему. Накопление в сетчатке иммунных комплексов в составе аутоАТ к родопсину сопровождается разрушением фоторецепторов сетчатки — первого нейрона зрительного анализатора.

Актин — один из основных компонентов цитоскелета эукариотических клеток. Актиновый цитоскелет играет важную роль в образовании и высвобождении пузырьков на плазматической мембране, в процессах клеточного эндоцитоза и фагоцитоза, благодаря которым протекают фотохимические реакции в фоторецепторах сетчатки и РПЭ.

α -Фодрин — второй по значимости нейронный белок цитоскелета. Он привязывает нити актина к плазматической части мембраны клетки. Фодрин является мишенью для каспазы-3 и расщепляется на ранних стадиях апоптоза, приводя к мембранно-структурным перестройкам. Следом активизируется протеолитический каскад с участием каспазы-8. Фодрин играет важную роль в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона и Альцгеймера. В условиях экспериментальной хронической глазной гипертензии у крыс фодрин расщеплялся каспазой-3 [21]. Повышенная иммунореактивность к нему в эксперименте на модели глаукомы свидетельствовала о возможности общих универсальных механизмов в патогенезе глаукомы и таких нейродегенеративных болезней, как болезнь Альцгеймера [22].

T β 4 (тимозин) — внутриклеточный пептид, играет важнейшую роль в реорганизации цитоскелета клеток, усиливает миграцию эндотелиальных клеток, способствует ангиогенезу, регенерации тканей, снижает воспалительную реакцию. Блокирует апоптоз клеток, усиливая их толерантность к гипоксии и снижая их чувствительность к апоптозу, реализуя нейропротекторный эффект. Регулирует полимеризацию актина в клетках млекопитающих за счет связывания с глобулярной формой актина.

GAPDH — проапоптотический фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, активизируется при появлении стрессорного фактора — оксида азота. Оксид азота не только является одним из мессенджеров, участвующих в регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации, в том числе и передаче синаптического сигнала, но и обладает цитотоксическим эффектом. GAPDH вовлечен в большое количество внутриклеточных процессов, таких как синтез мембраны, комплектация микротубул, активация фосфотрансферазы, экспорт РНК, репликация ДНК и репарация ДНК. Сосредоточен в основном в ядрах, связан с актиновыми филаментами. При индукции апоптоза неактивные формы GAPDH выходят из ядра и равномерно распределяются в цитоплазме. Установлено, что перемещение неактивных форм из ядра в цитоплазму может служить ранним маркером апоптоза.

Антитела в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА, sandwich ELISA). На первом этапе в лунки планшета помещали 50 мкл раствора смеси 100 мМ карбоната и гидрокарбоната натрия pH 9,0, содержащего 0,1 мкг соответствующего АГ, и инкубировали ночь при +4°C. Лунки трижды промывали раствором PBS-0,15% Tween 20, блокировали 1 час раствором 2% BSA в карбонатном буфере при +37°C. Далее блокирующий раствор удаляли, лунки вновь трижды промывали раствором PBS-0,15% Tween 20. Вносили разведения тестируемых проб сыворотки крови (сывороточные АТ, 1:100) и контрольных образцов

в диапазоне от 1 до 0,0005 мкг в 50 мкл раствора PBS-0,5% BSA-0,15% Tween 20, затем инкубировали 1 час при +37°C, после чего снова трижды промывали. Затем в соответствующие лунки добавляли по 50 мкл конъюгата АТ козы, специфичных к Fc-фрагменту иммуноглобулина G (IgG) человека или мыши (1:4000) соответственно. Инкубировали час при +37°C, промывали 5 раз. Окрашивание проводили, добавляя во все лунки по 50 мкл раствора тетраметилбензидина. Реакцию останавливали 10% раствором фосфорной кислоты. Измеряли абсорбцию тест-объекта при длине волны 450 нм на планшетном спектрофотометре. Концентрацию АТ в сыворотке отражал спектрофотометрический показатель в условных единицах оптической плотности. Все стадии, за исключением первичной посадки антигена, проводили с помощью автоматизированной станции JANUS (PerkinElmer, USA).

Методы статистического анализа

Результаты анализировали с помощью пакета прикладных статистических программ SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., США) с применением стандартных алгоритмов вариационной статистики, включая корреляционный анализ и анализ таблиц сопряженности, а также различные типы межгруппового сравнения параметров распределения изучаемых показателей. Для всех показателей приводится среднее значение и стандартное отклонение (Mean \pm SD), а также размах вариации (Range). Межгрупповые различия показателей, измеренных по интервальной шкале, рассчитывали методом t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Корреляционную связь между показателями, измеренными по интервальной шкале, оценивали с помощью коэффициентов корреляции Пирсона, Спирмена и Tau-b Кендалла, а в случаях номинальной или ранговой шкалы — по таблицам сопряженности с расчетом нескольких модификаций критерия хи-квадрат, а также коэффициентов сопряженности и коэффициентов Крамера.

Результаты

Результаты серологического картирования антител выявили признаки aberrантного аутоиммунитета в обеих группах больных с глаукомой. Это проявлялось комплексным дефицитом антител образования. Так, по сравнению с контролем (здоровые доноры) показатели профильных аутоАТ при глаукоме значительно отличались. Характер происходящих изменений зависел от формы глаукомы. В табл. 2 приведены данные серологического картирования в обеих группах больных с глаукомой.

Нарушения системного иммунитета при НТГ проявлялись достоверным снижением уровня АТ к родопсину с $1,13 \pm 0,13$ (Mean \pm SD) до $0,91 \pm 0,19$ ($p=0,00002$, $p<0,001$), к α -фодрину с $0,39 \pm 0,17$ до

Сравнительные показатели серологического картирования антител при НТГ и ПОУГ

Показатели системного иммунитета		Вид патологии		Контроль (n=25)
		НТГ (n=31)	ПОУГ (n=30)	
Антитела к ENO-1	размах вариации	0,18-0,52	0,21-0,66	0,34-0,87
	Mean±SD	0,28±0,09***	0,36±0,14***	0,56±0,19
Антитела к MBP	размах вариации	0,22-0,94	0,22-0,82	0,34-0,91
	Mean±SD	0,40±0,16	0,41±0,19	0,49±0,20
Антитела к NSE	размах вариации	0,17-0,61	0,17-0,62	0,26-0,50
	Mean±SD	0,29±0,10**	0,33±0,13	0,37±0,08
Антитела к Тβ4	размах вариации	0,09-1,09	0,11-0,21	0,14-0,43
	Mean±SD	0,20±0,18	0,16±0,03**	0,23±0,11
Антитела к α-кристаллину	размах вариации	0,91-1,62	0,14-1,45	0,14-0,54
	Mean±SD	1,14±0,18***	1,14±0,38***	0,29±0,16
Антитела к родопсину	размах вариации	0,50-1,29	0,74-1,64	0,89-1,23
	Mean±SD	0,91±0,19***	1,13±0,29	1,13±0,13
Антитела к GAPDH	размах вариации	0,15-1,30	0,22-0,78	0,20-0,67
	Mean±SD	0,38±0,26	0,43±0,24	0,36±0,15
Антитела к актину	размах вариации	0,19-0,94	0,16-0,54	0,32-0,92
	Mean±SD	0,36±0,14**	0,33±0,10***	0,50±0,21
Антитела к α-фодрину	размах вариации	0,16-0,74	0,18-0,41	0,27-0,76
	Mean±SD	0,26±0,11**	0,30±0,09*	0,39±0,17

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$, достоверность отличий показателей по сравнению с контролем.

0,26±0,11 ($p=0,00107$, $p < 0,01$), к ENO1 с 0,56±0,19 до 0,28±0,09 ($p < 0,001$), актину с 0,50±0,21 до 0,36±0,14 ($p=0,00428$, $p < 0,01$) и NSE с 0,37±0,08 до 0,29±0,10 ($p=0,00201$, $p < 0,01$). При этом уровни аутоАТ к α-кристаллину повышались в 4 раза с 0,29±0,16 до 1,14±0,18 ($p < 0,001$) и практически не изменялись фоновые значения АТ к GAPDH и Тβ4.

Нарушения системного иммунитета при ПОУГ заключались в достоверном снижении уровня АТ к ENO1 с 0,56±0,19 до 0,36±0,14 ($p < 0,001$), Тβ4 с 0,23±0,11 до 0,16±0,03 ($p=0,00205$, $p < 0,01$), актину с 0,50±0,21 до 0,33±0,10 ($p=0,00078$, $p < 0,001$) и АТ к α-фодрину с 0,39±0,17 до 0,30±0,09 ($p=0,01513$, $p < 0,05$). При этом повышались уровни

Таблица 3
Принципиальные различия
в антителообразовании при разных
формах глаукомы

Показатели системного иммунитета	НТГ (n=31)	ПОУГ (n=30)
Антитела к ENO-1	*↓↓↓	↓↓
Антитела к MBP	↓	↓
Антитела к NSE	↓↓	↓
Антитела к Тβ4	↓	↓↓
Антитела к α-кристаллину	↑↑↑	↑↑↑
Антитела к родопсину	**↓↓↓	не изменяется
Антитела к GAPDH	не изменяется	↑
Антитела к актину	↓↓	↓↓↓
Антитела к α-фодрину	↓↓	↓

Примечание: * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$, достоверность различий между НТГ и ОУГ.

АТ к α-кристаллину с $0,29 \pm 0,16$ до $1,14 \pm 0,38$ ($p < 0,001$) и практически не изменялись фоновые значения АТ к родопсину. Наряду с этим, имела место выраженная тенденция к усилению антителообразования к GAPDH ($p = 0,21114$), которая сочеталась с тенденцией к снижению АТ к NSE ($p = 0,18586$) и MBP ($p = 0,13492$).

Принципиальные различия в показателях аутоиммунитета НТГ от ПОУГ заключались в развившемся дефиците антителообразования к родопсину (достоверность межгрупповых различий $p = 0,00085$, $p < 0,001$), фоновый уровень которого сохранялся при ПОУГ, и отсутствии изменений со стороны показателей АТ к Тβ4 (табл. 3), дефицит которых отмечали при ПОУГ ($p = 0,00205$, $p < 0,01$ по сравнению с контролем). При этом НТГ отличалась более выраженным снижением серологических показателей АТ к ENO-1 по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$), к NSE ($p = 0,00201$, $p < 0,01$) и α-фодрину ($p = 0,00107$, $p < 0,01$).

ПОУГ отличалась достоверным снижением АТ к актину ($p < 0,001$) и Тβ4 ($p = 0,00205$, $p < 0,01$), которые сочетались с усилением антителообразования к его белку-антагонисту — GAPDH ($p = 0,21114$).

Обсуждение

Настоящие исследования посвящены серологическому картированию аутоантител органной специфичности. Мы полагали, что полученные данные позволят уточнить некоторые молекулярно-иммунные механизмы в патогенезе оптической нейропатии при глаукоме в целом и нормотензивной глаукомы в частности [23].

При интерпретации полученных данных мы ориентировались на современные представления о том, что аутоАТ к различным органам и тканям постоянно циркулируют в сыворотке крови здорового человека и имеют определенную физиологическую концентрацию [24-27]. Ранее продукция аутоАТ рассматривалась в аспекте исключительно иммунопатологии. Современные представления о патогенетической роли аутоАТ сменились более обоснованным положением о том, что их присутствие в крови далеко не всегда свидетельствует об аутоиммунной природе заболевания. Появился иной взгляд на функции аутоАТ.

В 1960 г. французский иммунолог Р. Grabar высказал гипотезу о том, что аутоАТ способствуют связыванию и удалению из организма продуктов клеточного метаболизма, то есть, по сути, являются механизмом регуляции не только иммунного, но и клеточного гомеостаза [28]. Позднее, в 70-е годы, N.K. Jerne доказал, что в здоровом организме происходит постоянный синтез регуляторных аутоАТ к любым собственным АГ [29]. Исследования последних лет подтвердили этот постулат: аутоАТ в норме определяются у абсолютно здоровых индивидов при ряде физиологических состояний (беременность, старение, стрессовые ситуации), а также при физических нагрузках [23, 24, 27]. Их присутствие само по себе не считается признаком патологии.

В 1988 г. Y. Tommer и Y. Shoenfeld подтвердили экспериментально и клинически регуляторные функции аутоАТ. Регуляторные аутоАТ относятся к классу IgG, синтезируются в организме человека на протяжении всей жизни и направлены против различных компонентов клеток, не приводя при этом к цитотоксическим эффектам [23, 24]. Их спектр очень широк и постоянно пополняется. Среди них: аутоАТ к белкам цитоскелета, миелину, внеклеточным протеинам, коллагену, С3-фрагменту компонента, липопротеидам, альбумину, β2-микроглобулину, соматическим клеткам, внутриклеточным АГ и ряду ферментов.

В 1989 г. И.П. Ашмарин с соавт. [30] предположили, что аутоАТ способны осуществлять транспортные и регуляторные функции, конкурируя с гормонами и нейромедиаторами. Например, АТ к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ) ингибируют синтез тироксина при исходно низких концентрациях ТТГ (блокирующие АТ-рТТГ) и стимулируют его секрецию при относительно высоких значениях ТТГ (стимулирующие АТ-рТТГ).

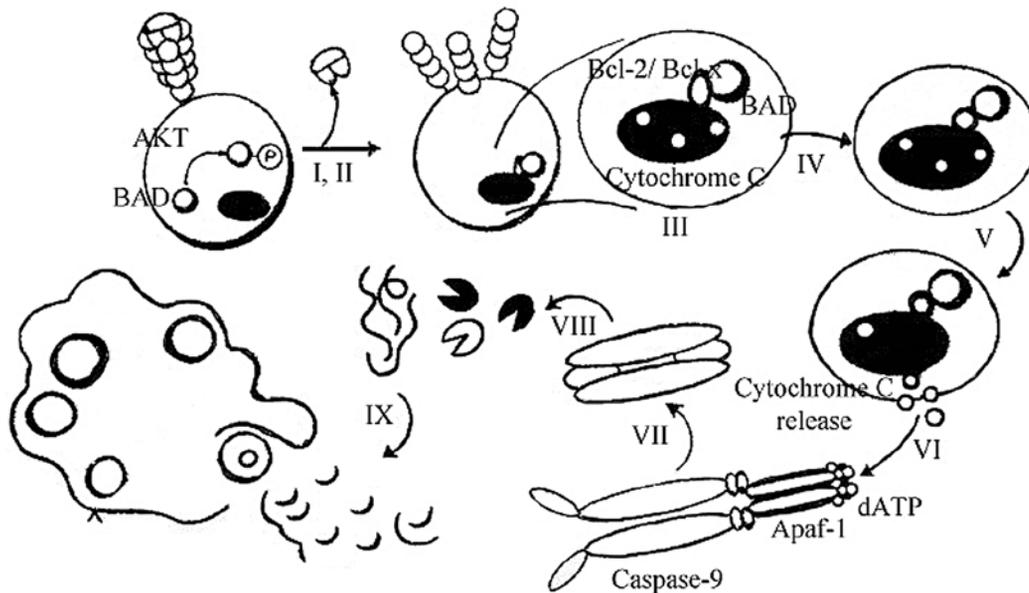


Рис. 1. Схема развития апоптоза (Лихванцева В.Г. Изучение роли цитокинов в патогенезе, лечении и прогнозе увеальной меланомы. М. 2001. Дис. ... д-ра мед. наук. Материалы и методы. С. 39.)

Работы последней декады лет показали, что аутоАТ могут контролировать не только клеточный гомеостаз, но и тканевой, индуцируя и/или ингибируя апоптоз. А. Ruiz-Arguelles и D. Alarcon-Segovia раскрыли проапоптогенные эффекты аутоАТ [31], предложив рассматривать апоптоз как способ аутопрезентации собственных АГ. В унисон их исследованиям звучит работа М.М. Кау [32], показавшая, что запрограммированная в онтогенезе физиологическая гибель клеток обусловлена естественным аутоиммунным ответом на стареющие клетки, на поверхности которых экспрессирован особый АГ-гликопротеин (band-3). Физиологические аутоАТ метят клетки, подлежащие устранению, а макрофаги осуществляют их опсонинозависимый фагоцитоз. Имеются данные, что уровень продукции АТ регулируется количеством соответствующих АГ (например, внутриклеточных или внутримембранных АГ компонентов), доступных для поглощения и процессинга презентирующими клетками и последующего распознавания Т- и В-лимфоцитами. Полагают, что чем больше продуктов, подлежащих утилизации, образуется в организме, тем больше вырабатывается аутоАТ, специфически связывающихся с этими продуктами и индуцирующих их утилизацию, опосредованную макрофагами [25]. У всех здоровых людей индивидуальная интенсивность запрограммированной смерти (апоптоз) и замещения (регенерация) дифференцированных клеток любого органа приблизительно одинаковы. Это обуславливает одинаковые уровни и сходный репертуар органоспецифических антигенных продуктов, подлежащих клиренсу, и, соответственно, идентичные уровни

продукции соответствующих аутоАТ. Заметим, что сходство в сывороточном содержании разных аутоАТ у здоровых лиц было отмечено давно, но ранее не находило объяснения.

Вполне закономерно, что наряду с проапоптогенными механизмами природа предусмотрела иммунные механизмы антиапоптогической защиты. Это особенно актуально для клеток, не обладающих способностью или имеющих ограниченные возможности к регенерации/репарации, к которым относятся клетки головного мозга и/или фотосенсорные клетки зрительного анализатора.

При расшифровке результатов настоящего исследования мы также опирались на известные постулаты.

Одинаковый иммунно-биологический феномен, а именно взаимодействие АГ с АТ с формированием иммунного комплекса антиген-антитело (АГ-АТ), может приводить к различным клиническим проявлениям, характер которых зависит от концентрации и спектра иммунных реагентов, места проведения реакции, специфичности и роли АТ, выполняемой в организме или его органе. Известная неоспариваемая функция любых АТ заключается в способности связывать персистирующий в кровотоке АГ и затем транспортировать его в то место, где оно должно быть использовано, утилизировано или разрушено.

Если повышение уровня персистирующих АТ принято считать хорошо известным иммунологическим феноменом, коррелирующим с тяжестью и активностью любого аутоиммунного заболевания, то объяснить логично статистически значимый дефи-

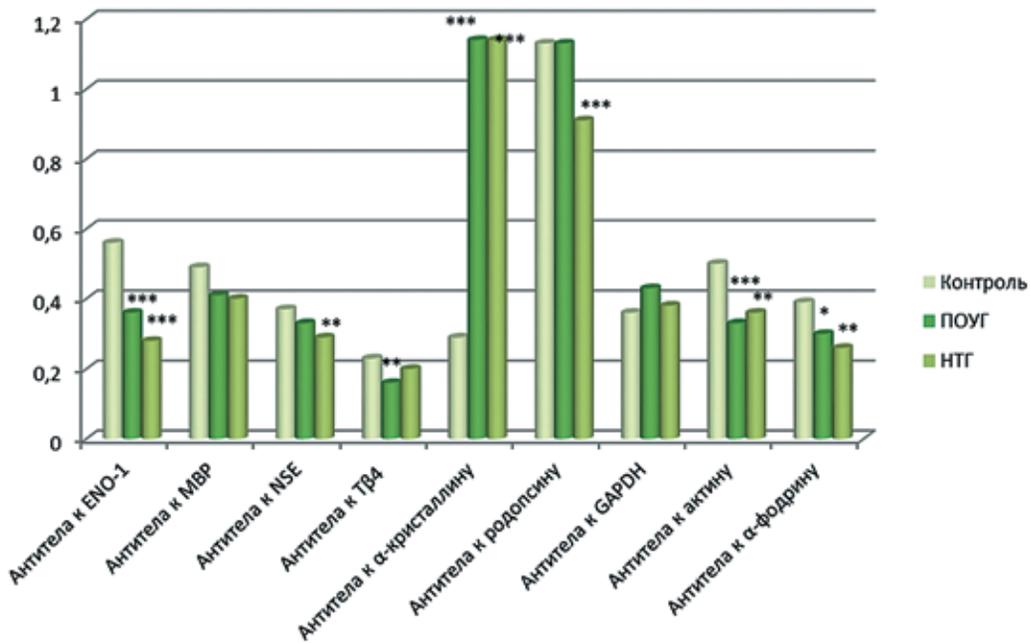


Рис. 2. Состояние системного иммунитета при разных формах глаукомы (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$, достоверность отличия показателей по сравнению с нормой)

цит аутоАТ по сравнению с нормой сложнее. Согласно современным представлениям, снижение уровня циркулирующих антител объясняется их пенетрацией внутрь клетки. Конечным результатом внутриклеточной пенетрации АТ является индукция апоптоза [31]. Апоптоз может обеспечить презентацию собственных АГ. Апоптотические тельца содержат кластеры АГ, вовлеченных в аутоиммунные феномены. В совокупности это служит дополнительным инициатором образования циркулирующих АТ и лимфоцитопосредованной цитотоксичности. Происходит генерация второго поколения аутоАТ.

В свете современных представлений результаты проведенного нами серологического картирования аутоАТ позволяют высказать предположение о существовании глубокого дефекта в системе антиапоптотической защиты у пациентов обеих групп с глаукомой. Это проявляется комплексным снижением сразу трех видов АТ, ингибирующих и/или блокирующих апоптоз нейрональных клеток: АТ к актину, фодрину и Tβ4 (больше при ПОУГ).

Основываясь на литературных данных, мы полагаем, что белки (актин и α-фодрин) играют немаловажную роль в поддержании цитоскелета всех трех нейронов сетчатки [12]. В комплексе с Tβ4 и GAPDH, актин и α-фодрин осуществляют адаптивный механизм антиапоптотической защиты клетки. Установлено, что Tβ4, благодаря взаимодействию с актином и модуляции актин-филаментной системы, осуществляет быструю реорганизацию скелета клетки. Механизм является универсальным и не зависит от тканевой принадлежности клетки. Доказано, что Tβ4, освобождаясь из комплекса

с актином и поступая в кровь, активирует серинтреонин киназу Akt, запуская основной сигнальный каскад, обеспечивающий выживание и пролиферацию нейронов. Кроме того, Tβ4 оказывает мощный антиапоптотический эффект, блокируя активацию каспазы 8, индуцированную рецептор-лигандным взаимодействием Fas-FasL (1 путь), и активацию каспазы 9, индуцированную выходом цитохрома C (cyt c) из митохондрий (рис. 1; 2 путь). Наряду с этим, Tβ4 блокирует апоптоз клетки, индуцированный перекисным взрывом, усиливая экспрессию каталазы, супероксиддисмутаза и других ферментов антиоксидантной защиты (3 путь). В этом аспекте он действует антагонистом GAPDH, который включает механизм апоптоза клетки в ответ на «индукцию окислительного стресса».

Как видно из диаграммы, представленной на рис. 2, комплексный дефицит АТ к Tβ4, актину и фодрину приводит к срыву антиапоптотической защиты. О состоявшемся апоптозе при НТГ и ПОУГ говорит дефицит антителообразования одновременно к трем АГ нейрональной дифференцировки: к ENO-1, MBP и NSE. Это свидетельствует о «расходе» АТ, которые, как известно, тратятся на образование иммунных комплексов и удаление избытка АГ из организма. Соответственно, уровень этих АТ снижается по сравнению со среднестатистическими значениями «нормы» для здоровых лиц.

В группе ПОУГ дополнительным аргументом в пользу состоявшегося апоптоза ГКС служит избыточная продукция АТ к GAPDH, которой должна предшествовать гиперэкспрессия и активация GAPDH. Полагаем, что в активации GAPDH виновен про-

должительный окислительный стресс. Заметим, что речь идет не об интенсификации фотохимических процессов в фоторецепторах при продолжительном фотострессе, сопровождающемся расходом родопсина. Уровень АТ к родопсину при ПОУГ остается в пределах референтных значений нормы, чего нельзя сказать о группе больных с НТГ. НТГ характеризуется выраженным снижением АТ к родопсину, следующим, по-видимому, за гиперэкспрессией этого АГ.

Несмотря на то что глаукому традиционно ассоциируют с апоптозом ганглиозных клеток сетчатки, электрофизиологические исследования, проведенные у пациентов с ПОУГ, демонстрируют функциональные нарушения, за которые отвечают внешние слои сетчатки и, в частности, слой фоторецепторов. Они проявляются фотопически зрительными и колбочковыми расстройствами [32]. Морфологические исследования глаз с ПОУГ противоречивы. Одни авторы подтверждают селективное повреждение фоторецепторов (красных/зеленых колбочек) с генерализованной потерей их внешних сегментов [27]. Другие, напротив, отрицают повреждение фоторецепторов при ПОУГ [33]. Полагают, что в ряде случаев функциональные изменения происходят в отсутствие патоморфологических.

Выявленные нами принципиальные различия в серологическом профиле АТ при разных формах глауком свидетельствуют о том, что мишени для аутоиммунной агрессии зрительного анализатора при НТГ и ПОУГ различаются. При ПОУГ иммунные реакции запускаются во внутренних слоях сетчатки, а при НТГ — в наружных, с вовлечением фоторецепторов. Доказательством служит выраженный расход аутоАТ к родопсину.

Полагаем, что молекулярно-иммунные различия объясняются особенностями гемодинамических нарушений кровоснабжения при НТГ и ПОУГ. При ПОУГ имеет место ишемизация внутренних слоев сетчатки, получавших кровоснабжение из сосудов сетчатки. При НТГ, скорее всего, нарушается хориоидальная перфузия [34, 36].

Известно, что характер антителообразования определяется уровнем экспрессии АГ, который, в свою очередь, усиливается в процессе апоптоза. На фоне установленного нами серологического репертуара аутоАТ избыточная продукция АТ к α -кристаллинам может рассматриваться в аспекте компенсаторной реакции, направленной на поддержание или восстановление нарушенных физиологических функций в сетчатке, и служит сигналом для запуска механизмов репарации [35, 38, 37].

Иммунная система может использовать даже незначительные изменения в экспрессии белков семейства теплового шока, к которым относится α -кристаллин, как сигнал для устранения клеток с метаболическими нарушениями, которые «нафаршированы» кислородными радикалами, каталитиче-

скими ферментами или иным образом трансформированы и помечены тепловым шоком. Потенциальная роль этих белков при глаукоме хорошо изучена [38]. Как известно, α -кристаллины действуют как ингибиторы апоптоза. При глаукоме на них возложена нейропротекторная роль. Гиперэкспрессия α -кристаллинов может быть вызвана несколькими факторами, включая ишемию и эксайтотоксичность. Показано, что хроническая системная и/или локальная ишемия сетчатки уменьшает сосудистую перфузию, является одним из ключевых факторов в патогенезе глаукомы, особенно при НТГ [16]. В этом аспекте избыточная продукция аутоАТ к α -кристаллинам, блокирующих их антиапоптотические функции, должна трактоваться как контрольно-регуляторная реакция иммунной системы, направленная на восстановление «золотого» баланса между апоптозом поврежденных клеток и пролиферацией и/или репарацией ДНК тех клеток, где это еще возможно.

Выводы

Серологическое картирование антител с анализом количественных и спектральных изменений является удобным инструментом для изучения иммунных механизмов в патогенезе глаукомы и оптической нейропатии.

При НТГ имеют место комплексные нарушения иммунного и молекулярного гомеостаза. Экспертным критерием aberrантного аутоиммунитета является дефицит АТ к Т β 4, актину и α -фодрину, отвечающих за блокирование апоптоза и сохранность цитоскелета в нейрональных клетках и служащих универсальным иммунным механизмом антиапоптотической защиты клеток. В сочетании с глубоким дефицитом АТ к NSE и ENO-1 (маркерами повреждения высококодифференцированных нервных клеток), а также снижением АТ к MBP (маркеру демиелинизации), выявленные дефекты антиапоптотической защиты могут быть расценены как факторы риска развития оптической нейропатии.

В качестве серологических маркеров иммунодиагностики оптической нейропатии при НТГ и ПОУГ могут быть предложены АТ к АГ нейрональной дифференцировки: ENO-1 и NSE.

Результаты серологического картирования (избыточное антителообразование к родопсину при НТГ и сохранение фоновых показателей при ПОУГ) свидетельствуют о принципиальных различиях в мишенях для аутоиммунной агрессии при разных формах глаукомы: мишенью для апоптоза при НТГ служат фоторецепторы сетчатки, при ПОУГ — ганглиозные клетки. Предположительно, выбор мишени аутоиммунной агрессии при разных формах глаукомы определяется характером гемодинамических нарушений, индуцирующих ишемизацию внутренних (питается из центральной артерии сетчатки)

или наружных слоев (кровоснабжается из системы коротких цилиарных артерий) сетчатки.

Гиперпродукция АТ к α -кристаллинам при обеих формах глаукомы может рассматриваться в аспекте компенсаторной реакции, направленной на поддержание или восстановление нарушенных физиологических функций в сетчатке, развившейся в ответ на состоявшийся апоптоз ганглиозных или фоторецепторных клеток сетчатки, и служить сигналом для запуска механизмов репарации.

Литература/References

1. Yang J., Tezel G., Patil R.V., Romano C., Wax M. Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(6):1273–1276.
2. Wax M. The case for autoimmunity in glaucoma. *Experimental Eye Research* 2011; 93(2):187–190.
3. Joachim S.C., Pfeiffer N., Grus F.H. Autoantibodies in patients with glaucoma: a comparison of IgG serum antibodies against retinal, optic nerve, and optic nerve head antigens. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2005; 243(8):817–823.
4. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25(5):490–513.
5. Wax M.B., Tezel G., Saito I., Gupta R.S., Harley J.B., Li Z., Romano C. Anti-Ro/SS-A positivity and heat shock protein antibodies in patients with normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:145–157.
6. Schwartz M. Neurodegeneration and neuroprotection in glaucoma: development of a therapeutic neuroprotective vaccine: the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:1407–1411.
7. Grus F.H., Joachim S.C., Hoffmann E.M., Pfeiffer N. Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. *Mol Vis* 2004; 10:132–137.
8. Joachim S.C., Grus F.H., Pfeiffer N. Analysis of autoantibody repertoires in sera of patients with glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 2003; 13:752–758.
9. Ikeda Y., Maruyama I., Nakazawa M., Ohguro H. Clinical significance of serum antibody against neuron-specific enolase in glaucoma patients. *Jpn J Ophthalmol* 2002; 46:13–17.
10. Tezel G., Hernandez R., Wax M.B. Immunostaining of heat shock proteins in the retina and optic nerve head of normal and glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 2000; 118:511–518.
11. Romano C., Barrett D.A., Li Z., Pestronk A., Wax M.B. Anti-rhodopsin antibodies in sera from subjects with normal-pressure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:1968–1975.
12. Grus F.H., Joachim S.C., Bruns K., Lackner K.J., Pfeiffer N., Wax M.B. Serum autoantibodies to alpha-fodrin are present in glaucoma patients from Germany and the United States. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:968–976.
13. Vazquez J., Fernandez-Shaw C., Marina A., Haas C., Cabello R., Valdivieso F. Antibodies to human brain spectrin in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 1996; 68:39–44.
14. Tezel G., Edward D.P., Wax M.B. Serum autoantibodies to optic nerve head glycosaminoglycans in patients with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1999; 117:917–924.
15. Kremmer S., Kreuzfelder E., Klein R., Bontke N., Henneberg-Quester K.B., Steuhl K.P., et al. Antiphosphatidylserine antibodies are elevated in normal tension glaucoma. *Clin Exp Immunol* 2001; 125:211–215.
16. Tezel G., Yang X., Luo C., Kain A., Powell D., Kuehn M.H., et al. Oxidative stress and the regulation of complement activation in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(10):5071–5082.
17. Stevens B., Allen N.J., Vazquez L.E., Howell G.R., Christopher K.S., Nouri N., et al. The classical complement cascade mediates developmental CNS synapse elimination. *Cell* 2007; 131:1164–1178.
18. Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Щуко А.Г. Национальное руководство (путеводитель) по глаукоме для поликлинических врачей. Москва: Столичный бизнес; 2008; 136 с. [Egorov E.A., Astakhov Yu.S., Shchuko A.G. Natsional'noe rukovodstvo po glaukome dlya poliklinicheskikh vrachei [National glaucoma guidance for clinic doctors]. Moscow: Capital business; 2008; 136 p. (In Russ.).]
19. Wood D.D., Bilbao J.M., Connors P. Acute multiple sclerosis (Marburg type) is associated with develop-mentally immature myelin basic protein. *Ann Neurol* 1996; 40(1):18–24.
20. Yamazaki Y., Yada K., Morii S., Kitahara T., Ohwada T. Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury. *Surg Neurol* 1995; 43(3):267–270.
21. Janicke R.U., Ng P., Sprengart M.L., Porter A.G. Caspase-3 is required for alpha-fodrin cleavage but dispensable for cleavage of other death substrates in apoptosis. *J Biol Chem* 1998; 273:15540–15545.
22. Mckinnon S.J. Glaucoma: ocular Alzheimer's disease? *Front Biosci* 2003; 8:1140–1156.
23. Wax M.B. Is there a role for the immune system in glaucomatous optic neuropathy? *Curr Opin Ophthalmol* 2000; 11:145–150.
24. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Общая патофизиология с основами иммунопатологии. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2008; 656 с. [Zaichik A.Sh., Churilov L.P. Obshchaya patofiziologiya s osnovami immunopatologii [General pathophysiology of the basics of immunopathology]. St. Petersburg: ELBI-Spb Publ.; 2008; 656 p. (In Russ.).]
25. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология. М: МИА; 2008; 208 с. [Poletaev A.B. Immunofiziologiya i immunopatologiya [Immunophysiology and immunopathology]. Moscow: MIA Publ.; 2008; 208 p. (In Russ.).]
26. Alarcon-Segovia D., Liorente L. Antibody penetration into living cells. III. Effect of antiribonucleoprotein IgG on cell cycle of human peripheral blood mononuclear cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1982; 23(1):22–23.
27. Shoenfeld Y. The Mosaic of Autoimmunity Prediction and treatment in autoimmune disease. *IMAJ* 2008; 10:12–19.
28. Grabar P. Hypothesis. Autoantibodies and immunological theories: an analytical review. *Clin Immunol Immunopathol* 1975; 4:453–466.
29. Jerne N. K. Towards a network theory of the immune System. *Ann Immunol* 1974; 125:373–389.
30. Симонова А.В. Новые подходы к оценке иммунного статуса при хронических инфекционных и воспалительных заболеваниях человека. Материалы 1-й московской международной конференции. М.; 2005; 91–92. [Simonova A.V. New approaches to the assessment of the immune status in chronic infectious and inflammatory diseases of man] Materials of the 1st Moscow International Conference. Moscow; 2005; 91–92. (In Russ.).]
31. Ruiz-Argiuelles A., Alarcon-Segovia D. Penetration of autoantibodies into living cells. *Isr Med Assoc* 2001; 3(2):121–126.

32. Kay M.M.B. Appearance of a thermal differentiation antigen on senescent and damaged cells and its implications for physiologic autoantibodies. *Biomembranes* 1983; 111:119–156.
33. Zendman A.J.W., Vossenaar E.R. Autoantibodies to citrullinated (poly) peptides: a key diagnostic and prognostic marker for rheumatoid arthritis. *Autoimmunity* 2004; 37:295–299.
34. Нестеров А.П., Алябьева Ж.Ю. Нормотензивная глаукома: современный взгляд на патогенез, диагностику, клинику и лечение. *Глаукома* 2005; 3(1):66–75. [Nesterov A.P., Alyabyeva Zh.Yu. Normal tension glaucoma: a modern view on pathogenesis, diagnostics, clinic and treatment. *Glaucoma* 2005; 3(1):66–75. (In Russ.)].
35. Шмырева В.Ф., Петров С.Ю., Антонов А.А., Пимениди М.К. Контролируемая цитостатическая терапия в ранние сроки после антиглаукоматозной хирургии (предварительные результаты). *Вестник офтальмологии* 2007; 1:12–14. [Shmireva V.F., Petrov S.Yu., Antonov A.A., Pimenidi M.K. Controlled cytostatic therapy in the early periods after surgery for glaucoma: preliminary results. *Vestn Oftalmol* 2007; 1:12–14. (In Russ.)].
36. Шмырева В.Ф., Петров С.Ю., Антонов А.А., Сипливый В.И., Стратонников А.А., Савельева Т.А., Шевчик С.А., Рябова А.В. Метод оценки оксигенации субконъюнктивального сосудистого русла с помощью спектроскопии отраженного света (экспериментальное исследование). *Глаукома* 2008; 2:9–14. [Shmireva V.F., Petrov S.Yu., Antonov A.A., Sipliviy V.I., Stratonnikov A.A., Savel'eva T.A., Shevchik S.A., Ryabova A.V. Method of evaluation of subconjunctival vascular bed with reflected light spectroscopy (experimental study). *Glaucoma* 2008; 2:9–14. (In Russ.)].
37. 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; 1:23–26. [Erichiev 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 POAG. *Glaucoma* 2009; 1:23–26. (In Russ.)].
38. Tezel G., Seigel G.M., Wax M.B. Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:2277–2287.

Поступила 03.02.2014

**НАУКА ПРЕВРАЩАЕТ СОВЕРШЕНСТВО ПРИРОДЫ
В ПРОИЗВЕДЕНИЕ ИСКУССТВА**

Stormoff
group of companies

г. Москва, ул. Расковой 11А
Тел.: (495) 780 7691
amo@stormoff.com, www.stormoff.com

Abbott
A Promise for Life