

## ПРОФИЛЬ ЦИТОКИНОВ ВОДЯНИСТОЙ ВЛАГИ И КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ТРАБЕКУЛЯРНОЙ СЕТИ У ПАЦИЕНТОВ С ПСЕВДОЭКСФОЛИАТИВНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Рахманов В.В.<sup>1,2</sup>, Юрьева А.В.<sup>2</sup>, Варганова Т.С.<sup>2</sup>, Соколов Д.И.<sup>3</sup>,  
Чепанов С.В.<sup>3</sup>, Маркова К.Л.<sup>3</sup>, Астахов Ю.С.<sup>1,3</sup>, Астахов С.Ю.<sup>1</sup>,  
Сельков С.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Глаукома, по данным ВОЗ, является одной из ведущих причин необратимой слепоты во всем мире и относится к ассоциированным с возрастом заболеваниям. Вместе с тем, ее патогенез остается не до конца изученным. Определение концентрации цитокинов в культуре клеток трабекулярной сети и водянистой влаге (ВВ), взятых от одного и того же пациента, имеет особый интерес, так как полученные данные позволят дать более полную характеристику происходящим в трабекулярном аппарате процессам и будут способствовать уточнению механизмов межклеточных взаимодействий при псевдоэксфолиативной (ПЭ) глаукоме. Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного анализа содержания цитокинов в ВВ и в супернатантах трабекулярной ткани (ТТ) пациентов с ПЭ глаукомой. Исследование проведено на 23 глазах больных с ПЭ глаукомой. Материалом исследования служили ВВ и супернатант культуры клеток ТТ. Измерение концентрации цитокинов проводили на проточном цитофлуориметре FacsCantoII (BD, США) при помощи СВА-метода. Для статистической обработки данных использовали программу IBM SPSS Statistics 19. Концентрации цитокинов (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, VEGF, GM-CSF) были определены в ВВ и в супернатанте ТТ для каждого из пациентов при ПЭ глаукоме. Но только концентрации IL-6, VEGF в ВВ были статистически значимо выше концентраций этих цитокинов в супернатанте ТТ у пациентов с ПЭ глаукомой. А концентрация IL-6 положительно коррелировала с концентрациями VEGF и IL-8 в супернатанте ТТ. Также были определены и проанализированы корреляционные связи между другими цитокинами в ВВ и супернатанте ТТ. Проведение множественного регрессионного анализа позволило установить, что стаж глаукомы и концентрация IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  в ВВ у пациентов с ПЭ глаукомой

### Адрес для переписки:

Рахманов Вячеслав Владимирович  
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова» Министерства  
здравоохранения РФ  
197022, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Льва Толстого, 6/8.  
Тел.: 8 (812) 338-71-73.  
E-mail: rakhmanoveyes@yandex.ru

### Address for correspondence:

Rakhmanov Vyacheslav V.  
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University  
197022, Russian Federation, St. Petersburg,  
L. Tolstoy str., 6-8.  
Phone: 7 (812) 338-71-73.  
E-mail: rakhmanoveyes@yandex.ru

### Образец цитирования:

В.В. Рахманов, А.В. Юрьева, Т.С. Варганова,  
Д.И. Соколов, С.В. Чепанов, К.Л. Маркова,  
Ю.С. Астахов, С.Ю. Астахов, С.А. Сельков  
«Профиль цитокинов водянистой влаги и культуры  
клеток трабекулярной сети у пациентов  
с псевдоэксфолиативной глаукомой» // Медицинская  
иммунология, 2021. Т. 23, № 1. С. 95-106.  
doi: 10.15789/1563-0625-POC-2097

© Рахманов В.В. и соавт., 2021

### For citation:

V.V. Rakhmanov, A.V. Yuryeva, T.S. Varganova, D.I. Sokolov,  
S.V. Chepanov, K.L. Markova, Yu.S. Astakhov,  
S.Yu. Astakhov, S.A. Selkov "Profile of cytokines in aqueous  
humor and trabecular meshwork cell culture in patients with  
pseudoexfoliation glaucoma", Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 95-106.  
doi: 10.15789/1563-0625-POC-2097

DOI: 10.15789/1563-0625-POC-2097

оказывают значимое влияние на снижение плотности эндотелиальных клеток роговицы. Проведение корреляционного анализа не выявило наличия связей между другими клиническими данными (толщиной роговицы в оптическом центре, уровнем ВГД, возрастом) и концентрацией цитокинов в исследуемых средах. Полученные результаты позволяют утверждать, что дать более полную характеристику дисбалансу цитокинов и происходящим в трабекулярном аппарате процессам при ПЭ глаукоме позволяет только одновременный анализ концентрации цитокинов в супернатанте ТТ и ВВ, взятых от одного и того же пациента. Показано, что изменение соотношения цитокинов, наблюдаемое при ПЭ глаукоме, может быть ассоциировано с развитием схожих структурных и функциональных изменений во всех тканях переднего отрезка глаза.

*Ключевые слова:* цитокины, VEGF, IL-6, трабекулярная сеть, псевдоэкссфолиативная глаукома, воспаление

## PROFILE OF CYTOKINES IN AQUEOUS HUMOR AND TRABECULAR MESHWORK CELL CULTURE IN PATIENTS WITH PSEUDOEXFOLIATION GLAUCOMA

Rakhmanov V.V.<sup>a,b</sup>, Yuryeva A.V.<sup>b</sup>, Varganova T.S.<sup>b</sup>, Sokolov D.I.<sup>c</sup>,  
Chepanov S.V.<sup>c</sup>, Markova K.L.<sup>c</sup>, **Astakhov Yu.S.<sup>a</sup>**, Astakhov S.Yu.<sup>a</sup>,  
Selkov S.A.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> City Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Glaucoma is one of the leading causes of irreversible blindness worldwide, being an age-related disease. Its pathogenesis still is not fully understood. A particular interest is attracted to evaluation of the cytokine concentrations in the trabecular meshwork cell culture, and in the aqueous humor (AH) taken from the same patient, since such data may allow to describe more completely the glaucomatous trabecular changes and to clarify the mechanisms of intercellular interactions in pseudoexfoliative (PEX) glaucoma. The purpose of this study was a comparative analysis of cytokine contents in AH and in trabecular tissue (TT) supernatants in the patients with PEX glaucoma. The study included 23 eyes of patients with PEX glaucoma. The material studied was AH and supernatant of TT cell culture. The cytokine concentration was measured using a flow cytometer FacsCantoII (BD, USA) using the CBA method. SPSS version 19 software (IBM, USA) was used for the statistical data processing. Concentrations of cytokines (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, VEGF, GM-CSF) were determined in AH and in the TT supernatant for each of the patients with PEX glaucoma. Only IL-6 and VEGF concentrations in AH were higher than those in the TT supernatant in patients with PEX glaucoma. The IL-6 concentration positively correlated with the VEGF and IL-8 concentrations in the TT supernatant. Correlations between other cytokines in the TT supernatant and AH were also identified and analyzed. Multiple regression analysis revealed that the duration of glaucoma and the IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  concentrations in AH may have a significant influence on the corneal endothelial cells, being associated with density reduction in patients with PEX glaucoma. The correlation analysis did not reveal any links between other clinical data (corneal thickness in the optical center, IOP level, age) and the cytokine concentrations in the studied tissues. The obtained results suggest that only simultaneous analysis of the cytokine concentrations in the TT supernatant and AH taken from the same patient may provide a more complete description of the cytokine imbalance and pathological processes occurring in the trabecular meshwork in PEX glaucoma patients. It has been shown that the changing cytokine ratios observed in PEX glaucoma may be associated with development of uniform structural and functional changes in all tissues of the anterior eye segment.

*Keywords:* cytokines, VEGF, IL-6, trabecular meshwork, pseudoexfoliative glaucoma, inflammation

## Введение

Глаукома представляет собой группу оптических нейропатий, характеризующихся прогрессирующей гибелью ганглиозных клеток сетчатки с развитием типичной глаукомной атрофии зрительного нерва и сужением периферических границ полей зрения. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ), псевдоэксфолиативная (ПЭ) глаукома являются наиболее частыми формами глаукомы. Несмотря на ряд общих черт с ПОУГ, для ПЭ глаукомы характерна устойчивость к медикаментозной терапии и более быстрое прогрессирование симптомов [20]. Возраст является одним из факторов риска развития глаукомы. Несмотря на большое количество научных работ, посвященных изучению патогенеза глаукомы, многие его аспекты остаются не до конца изученными. Исследования последних лет убедительно свидетельствуют о роли иммунной системы в развитии глаукомы. Необходимым условием для поддержания постоянного уровня внутриглазного давления (ВГД), повышение которого является одним из основных факторов риска прогрессии глаукомы, является четкое взаимодействие между клетками и экстрацеллюлярным матриксом (ЭЦМ) в трабекулярном аппарате. Это взаимодействие осуществляется посредством выработки различных цитокинов, хемокинов, нейротрофических факторов и других сигнальных молекул, которые участвуют в синтезе, деградации и модификации различных компонентов ЭЦМ трабекулярной сети [6]. В литературе приведены данные исследований, в которых оценивались концентрации цитокинов в биологических жидкостях и тканях у больных с различными формами глаукомы: сыворотке крови [23, 24, 25, 31], водянистой влаге (ВВ) [8, 9, 31, 36], слезе [9, 17], лизате клеток трабекулярной сети [27]. ПЭ синдром является фактором риска развития ПЭ глаукомы и представляет собой ассоциированное с возрастом системное нарушение фибриллогенеза, которое возникает в результате повышенного образования и неправильной сборки компонентов эластиновых микрофибрилл, что приводит к отложению в различных тканях аномального фибриллярного материала [11]. ПЭ глаукома характеризуется повышенными концентрациями TGF- $\beta$ 1, IL-6, а также CTGF (фактор роста соединительной ткани), bFGF (основной фактор роста фибробластов), VEGFA (эндотелиальный фактор роста сосудов А) в ВВ. Причем при ПЭ глаукоме концентрации TGF- $\beta$ 1, IL-8, IL-6 выше, чем при ПОУГ [36], а концентрация IL-6 при ПОУГ понижена по сравнению с группой контроля. В то же время Такаи Y. и соавт. не обнаружили повышения концентрации VEGFA, а также TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  в ВВ пациентов с ПЭ глаукомой по сравнению с пациентами группы контроля и ПОУГ [36]. Zenkel M. и соавт. показали повышенные концентрации

IL-6 и IL-8 в ВВ только на ранних стадиях ПЭ синдрома. На поздних стадиях ПЭ синдрома, при ПЭ глаукоме и в группе контроля содержание данных цитокинов в ВВ статистически значимо не различалось [39]. Такие противоречивые данные могут быть связаны с тем, что спектр оцениваемых белковых молекул, методы, используемые в исследованиях, размер и состав выборок по нозологическим формам отличаются своей вариабельностью. Кроме этого, ВВ содержит широкий спектр цитокинов, хемокинов, факторов роста и других белковых молекул, которые продуцируются как клетками трабекулярной сети и шлеммова канала, так и глиальными клетками сетчатки, эпителиальными клетками цилиарного тела, эндотелиальными клетками, макрофагами и другими клетками иммунной системы [4]. Концентрация этих биомолекул ассоциирована с выраженностью изменений тканей, как переднего, так и заднего отрезка глаза. На состав ВВ оказывает влияние длительность, количество и характер применяемых лекарственных препаратов для лечения глаукомы, уровень ВГД, а также наличие в анамнезе внутриглазных хирургических вмешательств. Поэтому, несмотря на достаточно большое количество исследований, механизмы межклеточных взаимодействий в трабекулярном аппарате при ПЭ глаукоме не до конца ясны. Мы не нашли работ, в которых исследовался состав супернатанта трабекулярной ткани при ПЭ глаукоме. В связи с этим, определение концентрации цитокинов в культуре клеток трабекулярной сети и ВВ, взятых от одного и того же пациента, имеет особый интерес, так как полученные данные позволяют дать более полную характеристику происходящим в трабекулярном аппарате процессам и будут способствовать уточнению механизмов межклеточных взаимодействий при ПЭ глаукоме.

**Целью настоящего исследования** явилось проведение сравнительного анализа содержания цитокинов в ВВ и в супернатантах трабекулярной ткани пациентов с ПЭ глаукомой.

## Материалы и методы

В исследование было включено 23 пациента (23 глаза), которым выполнялось хирургическое лечение по поводу ПЭ глаукомы в городской многопрофильной больнице № 2. Возраст пациентов варьировал от 47 до 85 лет. Стаж глаукомы варьировал от 1 месяца до 19 лет (табл. 1).

Среди обследуемых соотношение по полу было следующим: 9 женщин (39,1%) и 14 мужчин (60,9%). Статистически достоверной разницы по возрасту между пациентами разного пола не выявлено ( $p = 0,924$ ). Обязательным условием включения в исследование являлось подписание пациентом информированного согласия. Критериями исключения являлось наличие тяжелых соматических заболеваний (сахарный диабет,

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИКО-БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ПАЦИЕНТОВ С ПЭ ГЛАУКОМОЙ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

TABLE 1. CLINICAL AND BIOMETRIC DATA OF PATIENTS WITH PEX GLAUCOMA, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

<b>Возраст (лет)</b> Age (years)	69 (64-79)
<b>Стаж глаукомы (лет)</b> Duration of glaucoma (years)	2 (0,25-4,5)
<b>ВГД в день операции (мм Hg)</b> IOP on the day of surgery (mm Hg)	23 (22-25)
<b>Плотность эндотелиальных клеток (кл/мм<sup>2</sup>)</b> Endothelial cell density (cells/mm <sup>2</sup> )	2263,0 (1950,5-2567,5)
<b>Толщина роговицы в оптическом центре (мкм)</b> Central corneal thickness (μm)	522,5 (491,75-535,5)

аутоиммунные заболевания, онкологические заболевания), прием глюкокортикоидов, иммуносупрессантов, наличие в анамнезе офтальмологических оперативных вмешательств, травм и ожогов органа зрения, увеитов различной этиологии, острых нарушений кровообращения в сосудах сетчатки и зрительного нерва, а также дистрофических заболеваний сетчатки, дистрофии роговицы и аметропии высокой степени. Соматический статус пациентов оценивался терапевтом. Также учитывалась длительность применения, характер и количество лекарственных препаратов, используемых для лечения глаукомы, уровень ВГД, а также стадия глаукомы. Всем пациентам перед включением в исследование проводилось стандартное комплексное офтальмологическое обследование с целью верификации диагноза: визометрия с авторефрактометрией, кинетическая периметрия, тонометрия, биомикроскопия, гониоскопия, офтальмоскопия. Также всем пациентам выполнялась эндотелиальная микроскопия (Topcon SP-3000P, Япония), позволяющая оценивать толщину роговицы в центральной зоне и плотность эндотелиальных клеток (ЭК) роговицы (рис. 1). У всех пациентов, включенных в исследование, на оперированном глазу наблюдалась далеко зашедшая стадия глаукомы. Изменения в переднем отрезке глаза характеризовались проявлениями ПЭ синдрома разной степени выраженности в виде наслоений эксфолиативного материала на передней капсуле хрусталика, на эндотелии роговицы и по зрачковому краю, атрофии стромы радужки и пигментной каймы по краю зрачка и дисперсии пигмента в иридокорнеальном углу и по поверхности радужки. По поводу глаукомы всем пациентам была выполнена гипотензивная операция: трабекулэктомия по стандартной методике.

Забор ВВ из передней камеры пациента производили с помощью инсулиновой иглы (27 G) без контакта с внутриглазными структурами и до выполнения каких-либо манипуляций на глазном яблоке. Образцы жидкости помещали в сте-

рильный эппендорф, замораживали и хранили при -80 °С. Трабекулярную ткань (ТТ) получали при выполнении трабекулэктомии. Образцы ткани (внутренняя стенка шлеммова канала с юкстаканаликулярной тканью) помещали в раствор Хенкса (200 мкл) для транспортировки (не более двух часов при +4 °С). Далее в стерильных условиях образец ТТ перемещали в лунку 96-луночного (круглодонного) планшета (Sarstedt, Австрия) в 100 мкл среды DMEM/F12 (Sigma, США) без добавления эмбриональной телячьей сыворотки и культивировали сутки при 37 °С во влажной атмосфере с 5%-ным содержанием CO<sub>2</sub>. Далее центрифугировали планшет 200 g 10 минут, стерильно отбирали супернатант (70 мкл) из лунки в эппендорф и замораживали на -80 °С. Оценку содержания и измерение концентрации цитокинов: TNFα, IL-6, IL-10, IL-8, IFNγ, IL-1β, GM-CSF, VEGF проводили на проточном цитофлуориметре FacsCantoII (BD, США) при помощи CBA-метода, используя стандартный набор Human Soluble Protein Flex Set Assay BD (США) и наборы для определения цитокинов: BD CBA human TNFα, Flex Set, BD CBA human IL-6 Flex Set, BD CBA human IL-10 Flex Set, BD CBA human IL-8 Flex Set, BD CBA human IFNγ Flex Set, BD CBA human IL-1β Flex Set, BD CBA human GM-CSF Flex Set, BD CBA human VEGF Flex Set. Для анализа содержания цитокинов проводили измерения концентраций стандартов, предоставленных в наборе. Анализ полученных результатов проводили, используя регрессионный анализ с построением калибровочной кривой.

Для статистической обработки данных использовали программу IBM SPSS Statistics 19. Для вычисления корреляций между данными использовали ранговый коэффициент корреляции ρ Спирмена, а для оценки влияния нескольких факторов на рассматриваемый признак – множественный регрессионный анализ. Для вычисления достоверности различий между сравниваемыми группами использовали критерий U Манна–Уитни для независимых выборок

и критерий знаковых рангов Вилкоксона для зависимых выборок.

## Результаты

При исследовании ВВ и супернатантов ТТ у пациентов с ПЭ глаукомой обнаружены следующие концентрации исследуемых цитокинов (рис. 2). При сравнении концентраций цитокинов в супернатантах ТТ и ВВ, используя критерий знаковых рангов Уилкоксона, статистически достоверная разница была получена только для двух цитокинов: VEGF и IL-6. Концентрации данных цитокинов в ВВ были статистически достоверно выше, чем в супернатанте ТТ (рис. 2).

Далее нами были проанализированы полученные данные на наличие корреляционных связей между цитокинами в супернатантах ТТ (с использованием рангового коэффициента корреляции  $\rho$  Спирмена). Концентрация  $IFN\gamma$  положительно коррелировала с IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-10. Содержание IL-10 положительно коррелировало с TNF $\alpha$ , а IL-1 $\beta$  положительно коррелировало с GM-CSF. Концентрация IL-6 положительно коррелировала с VEGF и IL-8 (табл. 2).

При анализе корреляционных связей между концентрациями цитокинов в ВВ нами была выявлена значимая положительная корреляционная связь только между IL-8 и IL-6 ( $r = 0,744$ ;  $p < 0,0001$ ). Между концентрациями других цитокинов в ВВ у обследуемых пациентов достоверных связей выявлено не было.

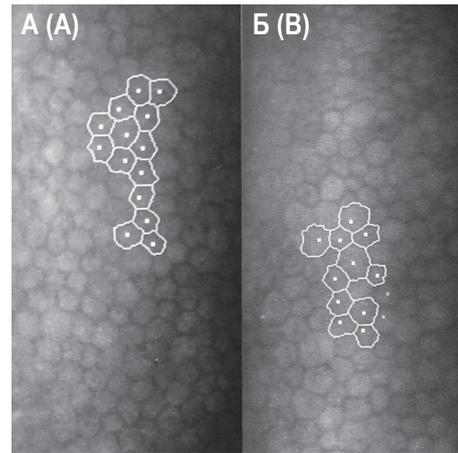


Рисунок 1. Данные эндотелиальной микроскопии пациентов с ПЭ глаукомой (площадь съемки 0,25 мм × 0,5 мм, увеличение 150×)

Примечание. А – количество ЭК 2259 кл/мм<sup>2</sup>; толщина роговицы в оптическом центре 511 мкм. Б – количество ЭК 1703 кл/мм<sup>2</sup>; толщина роговицы в оптическом центре 499 мкм. Кроме уменьшения плотности ЭК роговицы, отмечается нарастание явлений плеоморфизма и полимегатизма ЭК.

Figure 1. Data from endothelial microscopy of patients with PEX glaucoma (examination area 0.25 mm × 0.5 mm, magnification 150×)

Note. A, endothelial cell density 2259 cells/mm<sup>2</sup>; central corneal thickness 511 microns. B, endothelial cell density 1703 cells/mm<sup>2</sup>; central corneal thickness 499 microns. In addition to reducing the endothelial cell density, there is an increase in the phenomena of pleomorphism and polymegathism of corneal endothelial cells.

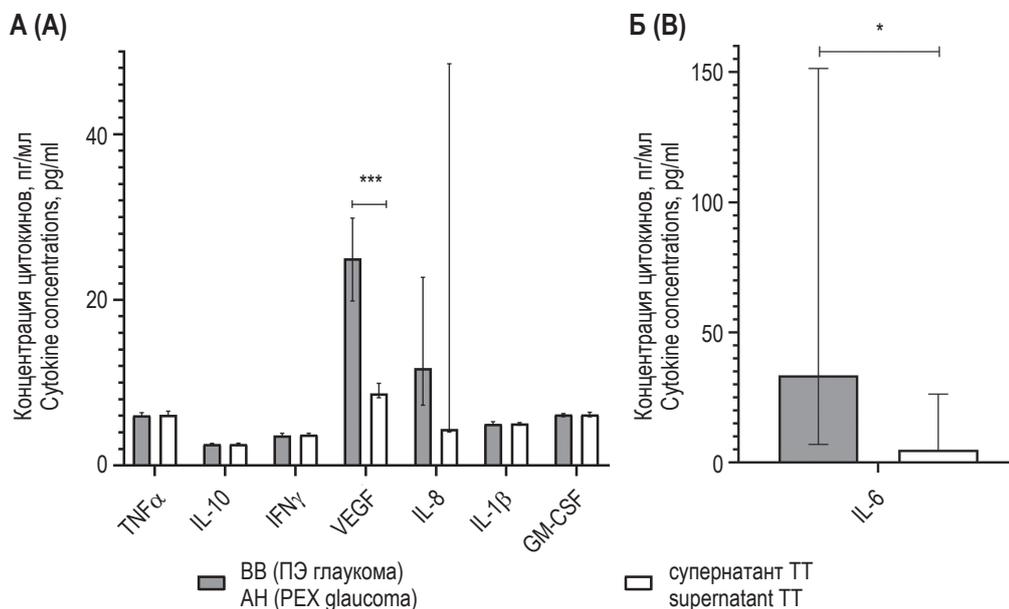


Рисунок 2. Концентрации цитокинов в супернатанте ТТ и ВВ у пациентов с ПЭ глаукомой, Ме ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Примечание. А – концентрации TNF $\alpha$ , IL-10, IFN $\gamma$ , VEGF, IL-8, IL-1 $\beta$ , GM-CSF. Б – концентрация IL-6. Достоверность различий: \* –  $p < 0,05$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Figure 2. Concentration of cytokines in the trabecular tissue (TT) supernatants and aqueous humor (AH) in patients with PEX glaucoma, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Note. A, concentrations of TNF $\alpha$ , IL-10, IFN $\gamma$ , VEGF, IL-8, IL-1 $\beta$ , GM-CSF. B, concentration of IL-6. Significance of differences: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

		TNF $\alpha$	IL-6	IL-10	IFN $\gamma$	VEGF	IL-8	IL-1 $\beta$	GM-CSF
Супернатант ТТ (пг/мл)	Медиана	6,11	4,87	2,60	3,74	8,68	4,40	5,08	6,18
	Q <sub>0,25</sub>	6,01	4,53	2,51	3,63	8,19	4,06	4,84	5,89
	Q <sub>0,75</sub>	6,56	26,34	2,70	3,89	9,93	48,51	5,20	6,44
ВВ (ПЭ глаукома, пг/мл)	Медиана	6,06	33,47	2,60	3,63	24,99	11,74	5,04	6,18
	Q <sub>0,25</sub>	5,93	6,97	2,48	3,53	19,85	7,29	4,86	5,89
	Q <sub>0,75</sub>	6,39	151,34	2,67	3,89	29,88	22,73	5,29	6,28

На следующем этапе нами была проанализирована взаимосвязь между концентрациями изучаемых цитокинов в ВВ и супернатанте ТТ. Обнаружена умеренная положительная связь между концентрациями IL-8 в супернатанте ТТ и IL-1 $\beta$  в ВВ и между VEGF в супернатанте ТТ и IFN $\gamma$  в ВВ, а также умеренная отрицательная корреляционная связь между концентрациями IFN $\gamma$  в супернатанте ТТ и VEGF в ВВ (табл. 3).

Для выявления возможного влияния изучаемых цитокинов, возраста, длительности анамнеза глаукомы на плотность ЭК роговицы, а также уточнения степени этого влияния нами был проведен множественный регрессионный анализ. При построении регрессионной модели в ка-

честве зависимой переменной взят показатель плотности ЭК роговицы, в качестве независимых: концентрации цитокинов, длительность анамнеза глаукомы. Результаты регрессионного анализа отражены в эмпирической модели (табл. 4).

Проведение множественного регрессионного анализа показало, что на плотность ЭК роговицы значимое влияние оказывают 3 фактора: стаж глаукомы и концентрации IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  в ВВ пациентов с ПЭ глаукомой. Эти факторы отрицательно коррелируют с плотностью ЭК роговицы.

Проведение корреляционного анализа не выявило связей между другими клиническими данными (толщиной роговицы в оптическом центре,

**ТАБЛИЦА 2. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ ЦИТОКИНОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В СУПЕРНАТАНТАХ ТТ ПАЦИЕНТОВ С ПЭ ГЛАУКОМОЙ**

TABLE 2. CORRELATIONS BETWEEN CYTOKINE CONCENTRATIONS DETECTED IN TT SUPERNATANTS IN PATIENTS WITH PEX GLAUCOMA

	TNF $\alpha$ (ТТ)	IL-6 (ТТ)	IFN $\gamma$ (ТТ)	GM-CSF (ТТ)
IL-10 (ТТ)	0,490*		0,518*	
IFN $\gamma$ (ТТ)	0,442*			
VEGF (ТТ)		0,478*		
IL-8 (ТТ)		0,784***		
IL-1 $\beta$ (ТТ)			0,557**	0,508*

Примечание. В таблице приведены коэффициенты ранговой корреляции Спирмена. Уровень значимости: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Note. The table shows Spearman's rank correlation coefficients. Significance level: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

**ТАБЛИЦА 3. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ ЦИТОКИНОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В СУПЕРНАТАНТАХ ТТ И ВВ ПАЦИЕНТОВ С ПЭ ГЛАУКОМОЙ**

TABLE 3. CORRELATIONS BETWEEN CYTOKINE CONCENTRATIONS DETECTED IN TT SUPERNATANTS AND AH IN PATIENTS WITH PEX GLAUCOMA

	VEGF (ВВ) VEGF (АВ)	IL-1 $\beta$ (ВВ) IL-1 $\beta$ (АВ)	IFN $\gamma$ (ВВ) IFN $\gamma$ (АВ)
IL-8 (ТТ)		0,489*	
VEGF (ТТ)			0,483*
IFN $\gamma$ (ТТ)	-0,605**		

Примечание. В таблице приведены коэффициенты ранговой корреляции Спирмена. Уровень значимости: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Note. The table shows Spearman's rank correlation coefficients. Significance level: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

ТАБЛИЦА 4. РЕГРЕССИОННАЯ МОДЕЛЬ ПРЕДИКТОРОВ ПЛОТНОСТИ ЭК РОГОВИЦЫ

TABLE 4. REGRESSION MODEL OF PREDICTORS OF CORNEAL ENDOTHELIAL CELL DENSITY

Предикторы Predictors	$\beta$	B (SE)
Стаж глаукомы Duration of glaucoma	-0,553**	-35,17 (10,22)
IFN $\gamma$ (ВВ) IFN $\gamma$ (AH)	-0,380*	-649,45 (276,96)
TNF $\alpha$ (ВВ) TNF $\alpha$ (AH)	-0,366*	-68,89 (30,36)

Примечание. Уровень значимости: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Note. Significance level: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

уровнем ВГД, возрастом) и концентрацией цитокинов в исследуемых средах.

## Обсуждение

В нашей работе были определены концентрации цитокинов (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, VEGF, GM-CSF) в ВВ и в супернатанте ТТ для каждого из пациентов при ПЭ глаукоме. Концентрации IL-6, VEGF в ВВ были выше концентраций этих цитокинов в супернатанте ТТ у пациентов с ПЭ глаукомой. А концентрация IL-6 положительно коррелировала с концентрациями VEGF и IL-8 в супернатанте ТТ.

Повышенное содержание IL-6 в ВВ при ПЭ глаукоме и ПЭ синдроме ранее было показано в ряде исследований [8, 36]. Цитокин IL-6 самостоятельно или в комбинации с другими провоспалительными цитокинами (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ ) индуцирует так называемый прокоагулянтный фенотип у ЭК, характеризующийся повышением сосудистой проницаемости, экспрессией адгезионных молекул (VCAM-1, ICAM-1) [14]. Такая активация ЭК сопровождается усилением секреции ими хемокинов (MCP-1, IL-8) [14], способствующих привлечению лейкоцитов, а также продукцией цитокинов (IL-6, IL-1), способных аутокринно и паракринно усиливать активацию ЭК и лейкоцитов. IL-6 продуцируется в различных тканях в глазу, но основным его источником в норме являются отростки цилиарного тела, где экспрессия данного цитокина в 100 раз выше, чем в других тканях переднего отрезка. Радужная оболочка, трабекулярная ткань, хориоидея являются следующими по выраженности продукции этого цитокина тканями в норме [39]. Zenkel M. и соавт. выявили повышенную экспрессию IL-6 в цилиарном теле и радужной оболочке на ранней стадии ПЭ синдрома по сравнению с группой контроля. По данным иммуногистохимического исследования наиболее выраженная экспрессия этого цитокина наблюдается в ЭК сосудов радужной оболочки и в клетках беспигментного эпителия отростков цилиарного тела. Полученные результаты свидетельствуют об ассоциации

повышенной концентрации IL-6 в ВВ с хроническим нарушением гематофтальмического барьера и выраженной васкулопатией радужной оболочки, что характерно для ПЭ синдрома и ПЭ глаукомы [39]. Поэтому выявленная в нашем исследовании более высокая концентрация IL-6 в ВВ по сравнению с супернатантом ТТ может быть объяснена тем, что трабекулярный аппарат не является единственным и основным источником образования этого цитокина.

Повышение концентрации другого цитокина – VEGF в ВВ у пациентов с различными формами глаукомы, также было показано в ряде исследований [3]. Этот медиатор влияет на сосудистую проницаемость, усиливает миграцию моноцитов и фибробластов, оказывает воздействие на митотическую активность ЭК и их восстановление после повреждения (антиапоптозное действие). Моноциты в свою очередь сами активно вырабатывают VEGF. Активация рецептора Flt-1 (VEGFR-1) приводит к тканеспецифическому выделению трофических факторов, IL-6 и других медиаторов, т.е. оказывает действие на пролиферацию клеток тканей в ответ на повреждение. Секретированный VEGFA находится в ЭЦМ в связанном с белками виде, откуда высвобождается под действием матриксных металлопротеиназ (ММР) и плазмина. Таким образом, ММР, в частности ММР-9, обеспечивают биодоступность VEGF для VEGFR-1, а также участвует в регуляции функциональной активности VEGF, посредством его посттрансляционной модификации. VEGF, в свою очередь, вызывает повышенную выработку ММР-9. Воздействие IFN $\gamma$  и VEGF на ЭК приводит к продукции IP-10, который является фактором хемотаксиса для Т-клеток. Клетки трабекулярного аппарата под действием различных стимулов (лазерное излучения, механическое растяжение, обусловленное повышением ВГД, воздействие цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ ), оксидативный стресс), выделяя различные медиаторы, в том числе VEGF, улучшают отток ВВ, воздействуя на ЭЦМ и повышая проницаемость эндотелия шлеммова канала.

Также, VEGF, как и оксидативный стресс, приводит к начальной временной активации аутофагии в клетках трабекулярного аппарата, что является физиологическим процессом, направленным на восстановление гомеостаза ткани. Однако при продолжающемся воздействии этих факторов начальная активация сменяется стадией угнетения аутофагии. Этот процесс сопровождается снижением количества клеток, дезорганизацией цитоскелета и нарастанием проявлений клеточного старения, воспалительным стрессом, усилением оксидативного стресса на фоне снижения антиоксидантной защиты [30]. Стареющие клетки в трабекулярном аппарате, несмотря на остановку клеточного цикла, выраженную дисфункцию митохондрий, сохраняют секреторную активность и продуцируют активные формы кислорода, разнообразные провоспалительные цитокины, в том числе IL-6, IL-8, которые составляют секреторный фенотип, ассоциированный со старением (SASP). Эти медиаторы оказывают воздействие на соседние клетки, влияя на пролиферацию, дифференцировку и усиливая процессы старения в них [37]. Следствием этого является прогрессивная постепенная утрата функциональных клеток в трабекулярном аппарате за счет их гибели, старения и эндотелиально-мезенхимальной трансдифференцировки (ЭМТ). Показано, что IL-6, а также другие провоспалительные цитокины и ростовые факторы (VEGF, TGF- $\beta$ 1, 2), гипоксия, способны вызывать миофибробластную трансформацию клеток трабекулярного аппарата, в том числе ЭК шлеммова канала [10, 35]. Этот процесс, называемый ЭМТ, является основой развития фиброзных изменений в трабекулярной сети вследствие повышенной продукции тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (TIMP) и компонентов ЭЦМ. В условиях гипоксии это способствует перегрузке эндоплазматической сети и накоплению агрегатов неправильно сложенного белка в тканях, а также повышает чувствительность клеток к действию провоспалительных цитокинов [19]. С возрастом происходит снижение количества клеток в трабекулярной сети (0,58% в год), смена их фенотипа, а также субклиническое воспаление [33]. Однако при глаукоме эти изменения носят более выраженный характер. Поэтому выявленные в нашем исследовании более низкие концентрации IL-6, VEGF в супернатанте ТТ могут быть также объяснены уменьшением количества функционирующих клеток трабекулярной сети при ПЭ глаукоме. В нашем исследовании у всех пациентов наблюдалась далекозашедшая (III) стадия ПЭ глаукомы. Отметим, что на ранних стадиях ПЭ глаукомы не отмечается резкого снижения количества клеток трабекулярной сети.

Кроме изменения клеточного состава в ТТ под действием цитокинов, значительные преоб-

разования при глаукоме происходят и в ЭЦМ. Показано, что у пациентов с ПЭ глаукомой наблюдается снижение соотношения MMP-2/TIMP-2, а также снижение активности MMP в ВВ и ТТ по сравнению с группой контроля, что характерно для хронических заболеваний, сопровождающихся избыточным фиброзом. Данный дисбаланс в трабекулярной сети вызывает распад компонентов ЭЦМ на фоне их активного синтеза активированными фибробластами. Результатом этого является накопление ЭЦМ, изменение его состава, увеличение сшивки между волокнами, что приводит к повышению устойчивости ЭЦМ к протеолизу и увеличению его механической прочности. Этим можно также объяснить наблюдаемое снижение активности MMP на фоне повышенного содержания неактивных форм MMP в ТТ при глаукоме [32]. Высвобождаемые в результате протеолиза компоненты ЭЦМ трабекулярной сети, такие как эластин, ламинин, фибронектин и др., а также продукты распада ЭЦМ, обладают биологически активными функциями. Они определяют не только свойства ЭЦМ, но и оказывают непосредственное влияние на клеточную морфологию, миграцию и пролиферацию фибробластов, ЭК, дифференцировку клеток, опосредуют контакты между клетками и ЭЦМ, участвуют в активации TGF- $\beta$ 1 и других ростовых факторов. Также они обладают свойствами хемоаттрактантов для иммунных клеток, стимулируя миграцию лейкоцитов и проникновение цитокинов через базальную мембрану. Привлеченные иммунные клетки, вырабатывая провоспалительные цитокины, приводят к еще более выраженному повышению экспрессии VEGF и MMP, что является одним из ключевых моментов в миофибробластной трансформации, и оказывают влияние на активность воспаления и ангиогенез [18].

Поэтому выявленные в нашем исследовании положительные корреляции между концентрациями IL-6 и VEGF [28] в супернатанте ТТ, а также между другими провоспалительными цитокинами в супернатанте ТТ и ВВ (IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , GM-CSF) являются закономерными ввиду того, что происходит взаимостимулирующее действие данных цитокинов [1, 7].

Также нами была выявлена положительная корреляция между концентрациями IL-10 и IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  в супернатанте ТТ, что объясняется наличием отсроченной активации продукции IL-10 под действием TNF $\alpha$  в процессе воспалительной реакции [21]. IFN $\gamma$ , являясь иммуномодулирующим цитокином, принимает непосредственное участие в ограничении повреждения тканей после воспаления. Под действием данного цитокина активируются выработка Th1-лимфоцитами IL-10, а также происходит поляризация макрофагов по M2-пути, которые обеспечивают

восстановление и ремоделирование тканей в очаге воспаления [22]. Micera A. и соавт. предположили, что увеличение концентрации IL-10, наблюдаемое при глаукоме, может опосредовать развитие фиброзных процессов, посредством противовоспалительного действия через подавление выделения TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, MIP-1 $\alpha$  и MIP-2 $\alpha$  моноцитами и макрофагами, повышения активности тканевых ингибиторов матриксных протеиназ и снижения активности MMP [27].

Наблюдаемая положительная корреляция между концентрациями IFN $\gamma$  в ВВ и VEGF в ТТ может быть обусловлена наличием оксидативного стресса в переднем отрезке глаза, в том числе в трабекулярном аппарате, и его усилением на фоне низкоуровневого воспаления, что характерно для ПОУГ [15] и ПЭ глаукомы [13]. Установлено, что провоспалительные цитокины, в том числе IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , выделяются в процессе оксидативного стресса, воспалительной реакции, усиливая проявления гипоксии. IFN $\gamma$ , как и ранее упомянутые цитокины, приводит к повышенному образованию реактивных форм кислорода, что способствует повышенной экспрессии VEGF [38].

Выявленную в нашем исследовании на первый взгляд парадоксальную отрицательную корреляцию между концентрацией IFN $\gamma$  в супернатанте ТТ и концентрацией VEGF в ВВ можно объяснить наличием дисбаланса Th1/Th2/Treg цитокинов, поляризацией макрофагов по M2 пути в ТТ при глаукоме, что приводит к преобладанию IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ 1 и обуславливает ремоделирование и фиброзирование ткани [16, 27]. Также было показано, что IFN $\gamma$  в процессе развития воспалительной реакции оказывает отсроченное подавляющее действие на секрецию VEGF моноцитами на трансляционном уровне. Кроме этого, IFN $\gamma$  способен угнетать выработку MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9 и MMP-10, что приводит к уменьшению мобилизации VEGF из резервуара в ЭЦМ.

Таким образом, анализ концентрации цитокинов в культуре клеток трабекулярной сети и ВВ, взятых от одного и того же пациента позволяет дать более полную характеристику дисбалансу цитокинов и происходящим в трабекулярном аппарате процессам при ПЭ глаукоме. По концентрации цитокинов в ВВ нельзя делать выводы о происходящих в трабекулярном аппарате изменениях. С другой стороны, входящие в состав ВВ медиаторы, продуцируемые клетками трабекулярной сети и шлеммова канала, глиальными клетками сетчатки, эпителиальными клетками цилиарного тела, эндотелиальными клетками, макрофагами и другими клетками иммунной системы [4], аутокринно и паракринно оказывают свое регуляторное воздействие на клетки различных тканей глаза. В связи с этим ожидаемо обна-

ружение сходных морфологических изменений во всех структурах переднего отрезка глаза при ПЭ глаукоме. Ранее было показано, что для изменений радужки при ПЭ синдроме характерно сужение и даже запустевание сосудов, дегенеративные изменения ЭК сосудов. При ПЭ кератопатии показано снижение плотности клеток во всех слоях роговицы. ЭК частично или полностью отслаиваются от эндотелиального слоя. Кроме уменьшения их количества, нарушения гексагональной формы характерно проявление ЭМТ с развитием фибробластоподобного фенотипа. Также наблюдается неравномерное утолщение десцеметовой оболочки, вследствие отложения ПЭ материала в ее толще, и формирование рыхлого фибриллярного слоя [40].

При проведении множественного регрессионного анализа нами установлено, что стаж глаукомы и концентрация IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  в ВВ у пациентов с ПЭ глаукомой оказывают значимое влияние на снижение плотности ЭК роговицы, что согласуется с данными других исследований. Действительно, потеря ЭК роговицы значительно ускоряется после проведения различных внутриглазных хирургических вмешательств, на фоне увеита, после повреждения радужной оболочки, что объясняется авторами повышением провоспалительных цитокинов в ВВ [2, 12]. Однако до конца механизмы наблюдаемых явлений не ясны. Так, выявленная в нашей работе отрицательная корреляция между концентрацией IFN $\gamma$  и плотностью ЭК роговицы может быть обусловлена снижением способности поврежденного эндотелия подавлять продукцию IFN $\gamma$  Т-лимфоцитами и отражает, по мнению ряда авторов, нарушение статуса иммунной привилегии в передней камере [26]. Sugita S. и соавт. показали, что ЭК роговицы могут подавлять активность CD4 $^+$ T-клеток, секретирующих IFN $\gamma$  [34]. Кроме этого, ЭК продуцируют активную мембран-ассоциированную форму TGF- $\beta$ 2, которая позволяет им подавлять CD8 $^+$ T-клетки, а также вызывает смену их фенотипа на Treg и стимулирует продукцию ими TGF- $\beta$ 1. Известно, что активация TGF- $\beta$ 1 сигнального пути приводит к гибели ЭК роговицы, т.к. происходит активации UPR сигнального пути, связанного с наличием несвернутого или неправильно свернутого белка. Длительное существование такой активации в условиях оксидативного стресса приводит к нарушению белкового гомеостаза, выбросу свободного кальция в цитоплазму и к гибели клетки в результате апоптоза [29]. В условиях эндотелиальной дисфункции провоспалительные цитокины оказывают свое воздействие и на клетки стромы. Так, IFN $\gamma$  повышает секрецию TGF- $\beta$ 1 роговичными фибробластами и экспрессию рецепторов к TGF- $\beta$ 1 на их поверхности, что может приводить к их гибели и миофибробластной трансформации.

## Заключение

Нами проведено сравнительное изучение концентрации цитокинов в средах глаза, которое показало, что уровень провоспалительных факторов (IL-6, VEGF) в ВВ выше, чем в супернатанте ТТ. В связи с чем по уровням цитокинов в ВВ нельзя делать выводы о происходящих в трабекулярном аппарате изменениях. Анализ концентрации цитокинов в культуре клеток трабекулярной сети и ВВ, взятых от одного и того же пациента, позволяет дать более полную характеристику дисбалансу цитокинов и происходящим в трабекулярном аппарате процессам при ПЭ глаукоме. Среди исследуемых в нашей работе цитокинов, изменение концентрации IL-6, VEGF имеет наибольшее значение в наблюдаемых структурных и функциональных нарушениях в переднем отрезке глаза при ПЭ глаукоме. Нами была построена регрессионная модель, выявившая, что предикторами плотности ЭК роговицы выступают стаж глаукомы и концентрации  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$  в ВВ у пациентов с ПЭ глаукомой. В результате про-

веденного исследования показано, что дисбаланс цитокинов, наблюдаемый при ПЭ глаукоме, может быть связан с развитием схожих изменений в тканях переднего отрезка глаза.

Ограничениями исследования явились небольшая по численности выборка пациентов с ПЭ глаукомой, а также отсутствие группы контроля. Также нами не проводилось определение изоформ VEGF, в частности VEGF- $A_{165b}$ , что могло повлиять на интерпретацию полученного результата.

Задачей дальнейшей работы будет сравнительный анализ концентраций исследуемых цитокинов у пациентов группы контроля и пациентов с ПЭ глаукомой.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность Баженову Д.О., Саллум З., Тыщук Е.В., Пятыгиной К.М., Бочковскому С.К., Артюгиной А., Соляник М.А., Горшковой А.А., Козыревой А.Р., Александровой Е., Родыгиной В. за помощь в получении супернатантов трабекулярной ткани.

## Список литературы / References

1. Айламазян Э.К., Степанова О.И., Сельков С.А., Соколов Д.И. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «Конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели // Вестник Российской академии медицинских наук, 2013. № 11. С. 12-21. [Ailamazyan E.K., Stepanova O.I., Selkov S.A., Sokolov D.I. Cells of immune system of mother and trophoblast cells: constructive cooperation for the sake of achievement of the joint purpose. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, no. 11, pp. 12-21. (In Russ.)]
2. Aketa N., Yamaguchi T., Suzuki T., Higa K., Yagi-Yaguchi Y., Satake Y., Tsubota K., Shimazaki J. Iris damage is associated with elevated cytokine levels in aqueous humor. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2017, Vol. 58, no. 6, pp. BIO42-BIO51.
3. Borazan M., Karalezli A., Kucukerdonmez C., Akman A., Akova Y.A. Aqueous humor and plasma levels of vascular endothelial growth factor and nitric oxide in patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *J. Glaucoma*, 2010, Vol. 19, no. 3, pp. 207-211.
4. Borrás T. Growth factors, oxidative damage, and inflammation in exfoliation syndrome. *J. Glaucoma*, 2018, Vol. 27, Suppl. 1, pp. S54-S60.
5. Browne J.G., Ho S.L., Kane R., Oliver N., Clark A.F., O'Brien C.J., Crean J.K. Connective tissue growth factor is increased in pseudoexfoliation glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2011, Vol. 52, no. 6, pp. 3660-3666.
6. Carreon T., van der Merwe E., Fellman R.L., Johnstone M., Bhattacharya S.K. Aqueous outflow – a continuum from trabecular meshwork to episcleral veins. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2017, Vol. 57, pp. 108-133.
7. Chang M.C., Lin S.I., Pan Y.H., Lin L.D., Wang Y.L., Yeung S.Y., Chang H.H., Jeng J. H. IL-1 $\beta$ -induced ICAM-1 and IL-8 expression/secretion of dental pulp cells is differentially regulated by IRAK and p38. *J. Formos. Med. Assoc.*, 2019, Vol. 118, no. 8, pp. 1247-1254.
8. 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, Vol. 18, pp. 431-438.
9. Csász É., Deák E., Tóth N., Traverso C.E., Csutak A., Tózsér J. Comparative analysis of cytokine profiles of glaucomatous tears and aqueous humour reveals potential biomarkers for trabeculectomy complications. *FEBS Open Bio*, 2019, Vol. 9, no. 5, pp. 1020-1028.
10. Dautriche C.N., Szymanski D., Kerr M., Torrejon K.Y., Bergkvist M., Xie Y., Danias J., Stamer W.D., Sharfstein S.T. A biomimetic Schlemm's canal inner wall: a model to study outflow physiology, glaucoma pathology and high-throughput drug screening. *Biomaterials*, 2015, Vol. 65, pp. 86-92.
11. Elhawry E., Kamthan G., Dong C.Q., Danias J. Pseudoexfoliation syndrome, a systemic disorder with ocular manifestations. *Hum. Genomics*, 2012, Vol. 6, no. 1, 22. doi: 10.1186/1479-7364-6-22.
12. Eom Y., Kwon J., Heo J.H., Yun C., Kang S.Y., Kim H.M., Song, J.S. The effects of proinflammatory cytokines on the apoptosis of corneal endothelial cells following argon laser iridotomy. *Exp. Eye Res.*, 2016, Vol. 145, pp. 140-147.

13. Erdurmuş M., Yağcı R., Atış Ö., Karadağ R., Akbaş A., Hepşen I.F. Antioxidant status and oxidative stress in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. *Curr. Eye Res.*, 2011, Vol. 36, no. 8, pp. 713-718.
14. Ewers M., Mielke M.M., Hampel H. Blood-based biomarkers of microvascular pathology in Alzheimer's disease. *Exp. Gerontol.*, 2010, Vol. 45, no. 1, pp. 75-79.
15. Ghanem A.A., Arafa L.F., El-Baz A. Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. *Curr. Eye Res.*, 2010, Vol. 35, no. 4, pp. 295-301.
16. Guo C., Wu N., Niu X., Wu Y., Chen D., Guo W. Comparison of T helper cell patterns in primary open-angle glaucoma and normal-pressure glaucoma. *Med. Sci. Monit.*, 2018, Vol. 24, pp. 1988-1996.
17. Gupta D., Wen J.C., Huebner J.L., Stinnett S., Kraus V.B., Tseng H.C., Walsh M. Cytokine biomarkers in tear film for primary open-angle glaucoma. *Clin. Ophthalmol.*, 2017, Vol. 11, pp. 411-416.
18. Halper J., Kjaer M. Basic components of connective tissues and extracellular matrix: elastin, fibrillin, fibulins, fibrinogen, fibronectin, laminin, tenascins and thrombospondins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2014, Vol. 802, pp. 31-47.
19. Hayat B., Padhy B., Mohanty P.P., Alone D.P. Altered unfolded protein response and proteasome impairment in pseudoexfoliation pathogenesis. *Exp. Eye Res.*, 2019, Vol. 181, pp. 197-207.
20. Holló G., Katsanos A., Konstas A.G. Management of exfoliative glaucoma: challenges and solutions. *Clin. Ophthalmol.*, 2015, Vol. 9, pp. 907-919.
21. Huynh L., Kusnadi A., Park S.H., Murata K., Park-Min K.H., Ivashkiv L.B. Opposing regulation of the late phase TNF response by mTORC1-IL-10 signaling and hypoxia in human macrophages. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 31959. doi: 10.1038/srep31959.
22. Ishii H., Tanabe S., Ueno M., Kubo T., Kayama H., Serada S., Fujimoto M., Takeda K., Naka T., Yamashita T. IFN- $\gamma$ -dependent secretion of IL-10 from Th1 cells and microglia/macrophages contributes to functional recovery after spinal cord injury. *Cell Death Dis.*, 2013, Vol. 4, no. 7, e710. doi: 10.1038/cddis.2013.234.
23. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A., Abu-Amero K.K. Elevated levels of plasma tumor necrosis factor alpha in patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Clin. Ophthalmol.*, 2018, Vol. 12, pp. 153-159.
24. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan .S.A., Abu-Amero K.K. Association of increased levels of plasma tumor necrosis factor alpha with primary open-angle glaucoma. *Clin. Ophthalmol.*, 2018, Vol. 12, pp. 701-706.
25. 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, Vol. 55, no. 8, pp. 5291-5297.
26. Maier P., Heizmann U., Böhringer D., Kern Y., Reinhard T. Predicting the risk for corneal graft rejection by aqueous humor analysis. *Mol. Vis.*, 2011, Vol. 17, pp. 1016-1023.
27. Micera A., Quaranta L., Esposito G., Floriani I., Pocobelli A., Saccà S.C., Riva I., Manni G., Oddone F. Differential protein expression profiles in glaucomatous trabecular meshwork: an evaluation study on a small primary open angle glaucoma population. *Adv. Ther.*, 2016, Vol. 33, no. 2, pp. 252-267.
28. Middleton K., Jones J., Lwin Z., Coward J.I. Interleukin-6: an angiogenic target in solid tumours. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2014, Vol. 89, no. 1, pp. 129-139.
29. Okumura N., Hashimoto K., Kitahara M., Okuda H., Ueda E., Watanabe K., Nakahara M., Sato T., Kinoshita S., Tourtas T., Schlötzer-Schrehardt U., Kruse F., Koizumi N. Activation of TGF- $\beta$  signaling induces cell death via the unfolded protein response in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, no. 1, 6801. doi: 10.1038/s41598-017-06924-3.
30. Porter K., Hirt J., Stamer W.D., Liton P.B. Autophagic dysregulation in glaucomatous trabecular meshwork cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, Vol. 1852, no. 3, pp. 379-385.
31. SarenacVulovic T., Pavlovic S., Lutovac M., Zdravkovic V., Sreckovic S., Zdravkovic N. Regulatory cytokines prescribe the outcome of the inflammation in the process of pseudoexfoliation production. *J. Chin. Med. Assoc.*, 2019, Vol. 82, no. 12, pp. 935-940.
32. Sethi A., Mao W., Wordinger R.J., Clark A.F. Transforming growth factor-beta induces extracellular matrix protein cross-linking lysyl oxidase (LOX) genes in human trabecular meshwork cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2011, Vol. 52, no. 8, pp. 5240-5250.
33. Stamer W.D., Clark A.F. The many faces of the trabecular meshwork cell. *Exp. Eye Res.*, 2017, Vol. 158, pp. 112-123.
34. Sugita S., Usui Y., Horie S., Futagami Y., Yamada Y., Ma J., Kezuka T., Hamada H., Usui T., Mochizuki M., Yamagami S. Human corneal endothelial cells expressing programmed death-ligand 1 (PD-L1) suppress PD-1<sup>+</sup> T helper 1 cells by a contact-dependent mechanism. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2009, Vol. 50, no. 1, pp. 263-272.
35. Takahashi E., Inoue T., Fujimoto T., Kojima S., Tanihara H. Epithelial mesenchymal transition-like phenomenon in trabecular meshwork cells. *Exp. Eye Res.*, 2014, Vol. 118, pp. 72-79.
36. 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, Vol. 53, no. 1, pp. 241-247.
37. Tchkonja T., Zhu Y., van Deursen J., Campisi J., Kirkland J.L. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J. Clin. Invest.*, 2013, Vol. 123, no. 3, pp. 966-972.
38. Wu Y., Meitzler J.L., Antony S., Juhasz A., Lu J., Jiang G., Liu H., Hollingshead M., Haines D.C., Butcher D., Panter M.S., Roy K., Doroshov J.H. Dual oxidase 2 and pancreatic adenocarcinoma: IFN- $\gamma$ -mediated dual oxidase 2

overexpression results in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced, ERK-associated up-regulation of HIF-1 $\alpha$  and VEGF-A. *Oncotarget*, 2016, Vol. 7, no. 42, pp. 68412-68433.

39. Zenkel M., Lewczuk P., Jünemann A., Kruse F.E., Naumann G.O., Schlötzer-Schrehardt U. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Am. J. Pathol.*, 2010, Vol. 176, no. 6, pp. 2868-2879.

40. Zheng X., Shiraishi A., Okuma S., Mizoue S., Goto T., Kawasaki S., Uno T., Miyoshi T., Ruggeri A., Ohashi Y. In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2011, Vol. 52, no. 3, pp. 1755-1761.

---

**Авторы:**

**Рахманов В.В.** — к.м.н., ассистент кафедры офтальмологии с клиникой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; врач-офтальмолог офтальмологического отделения № 5 СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия

**Юрьева А.В.** — врач-офтальмолог офтальмологического отделения № 4 СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия

**Варганова Т.С.** — к.м.н., врач-офтальмолог консультативно-диагностического отделения СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия

**Соколов Д.И.** — д.б.н., заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Чепанов С.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник группы протеомной иммунорегуляции отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Маркова К.Л.** — младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Астахов Ю.С.** — д.м.н., профессор, кафедра офтальмологии с клиникой ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Астахов С.Ю.** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой офтальмологии с клиникой ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Сельков С.А.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

**Rakhmanov V.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Ophthalmology Department, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Clinical Ophthalmologist, Clinical Dept 5, City Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation

**Yuryeva A.V.**, Clinical Ophthalmologist, Clinical Dept 4, City Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation

**Varganova T.S.**, PhD (Medicine), Ophthalmologist, Outpatient Department, City Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation

**Sokolov D.I.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Chepanov S.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Proteome Immunoregulation Group, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Markova K.L.**, Junior Research Associate, Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Astakhov Yu.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Ophthalmology Department, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Astakhov S.Yu.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Ophthalmology Department, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Selkov S.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 09.07.2020  
Отправлена на доработку 28.07.2020  
Принята к печати 24.08.2020

---

Received 09.07.2020  
Revision received 28.07.2020  
Accepted 24.08.2020