

мов, не опосредованных ФНО- $\alpha$ , что требует дальнейшего изучения.

В целом полученные данные свидетельствуют о возможности и необходимости мониторинга содержания ФНО- $\alpha$  в СЖ и СК у детей с увеитами, находящихся на лечении блокаторами ФНО- $\alpha$ , с целью коррекции терапии. Это облегчит выбор адекватной тактики лечения и профилактику развития осложнений, поможет избежать необоснованного назначения дорогостоящих и потенциально небезопасных препаратов, сохранить зрительные функции.

### Выводы

1. У детей с увеитами, ассоциированными с РЗ и получающими терапию ингибиторами ФНО- $\alpha$ , установлена связь течения воспалительного процесса в глазу с содержанием цитокина в СК и СЖ. Активность увеита часто наблюдалась при отсутствии определяемых концентраций цитокина в исследуемых тест-пробах, а достижение и/или сохранение ремиссии — при наличии его низких концентраций в СК (до 21 пг/мл) и/или в СЖ (до 10 пг/мл).

2. Полученные данные позволяют проводить обоснованную коррекцию терапии в условиях иммунологического мониторинга, избегать неоправданного применения медикаментозных препаратов, способствуют более эффективному лечению увеита, профилактике развития осложнений и необратимого снижения зрения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Е.И., Литвицкий П.Ф. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритмы диагностики и лечения. — М., 2007.
2. Денисова Е.В., Катаргина Л.А., Старикова А.В., Любимова Н.В. Генно-инженерные биологические препараты в комплексном лечении педиатрических увеитов, ассоциированных с ревматическими заболеваниями // Тезисы 2-го Всероссийского конгресса ревматологов России. — Ярославль, 2011. — С. 20.
3. Дроздова Е.А., Теплова С.Н. Роль цитокинов в иммунопатогенезе увеита, ассоциированного с ревматическими заболеваниями // Цитокины и воспаление. — 2007. — № 1. — С. 15—19.
4. Катаргина Л.А., Хватова А.В. Эндогенные увеиты у детей и подростков. — М., 2000.
5. Катаргина Л.А., Архипова Л.Т. Увеиты: патогенетическая и иммуносупрессивная терапия. — Тверь, 2004.
6. Михельс М., Никишина И.П., Федоров Е.С., Салугина С.О. Генно-инженерная биологическая терапия ювенильного артрита // Науч.-практ. ревматол. — 2011. — № 1. — С. 78—93.
7. Слепова О.С. Патогенетическая роль цитокинов при различных заболеваниях глаз как основа для прогнозирования и выбора тактики иммунокорректирующего лечения // Рос. офтальмол. журн. — 2008. — № 3. — С. 36—42.
8. Старикова А.В. Клинические и иммунологические критерии прогнозирования течения, исходов и выбора лечебной тактики при увеитах, ассоциированных с поражением суставов у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2003.
9. Bazzoni F., Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334, N 26. — P. 1717—1725.
10. Biester S., Deuter C., Michels H. et al. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood // Br. J. Ophthalmol. — 2007. — Vol. 91, N 3. — P. 319—324.
11. Gallagher M., Quinones K., Cervantes-Cast. R. et al. Biological response modifier therapy for refractory childhood uveitis // Br. J. Ophthalmol. — 2007. — Vol. 91, N 10. — P. 1341—1344.
12. Heiligenhaus A., Mingels A., Heinz C., Gasner G. Methotrexate for uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis: value and requirement for additional anti-inflammatory medication // Eur. J. Ophthalmol. — 2007. — Vol. 17, N 15. — P. 743—748.
13. Lacomba M.S., Martin C.M., Galera G.J.M. et al. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor-alpha in clinical uveitis // Ophthalm. Res. — 2001. — Vol. 33, N 5. — P. 251—255.
14. Saurenmann R.K., Levin A.V., Rose J.B. et al. Tumour necrosis factor alpha inhibitors in the treatment of childhood uveitis // Rheumatology. — 2006. — Vol. 45, N 8. — P. 982—989.
15. Tappeiner C., Roessel M., Heinz C. et al. Limited value of cyclosporine A for the treatment of patients with uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis // Eye. — 2009. — Vol. 23, N 5. — P. 1192—1198.
16. Tynjälä P., Kotaniemi K., Linahl P. et al. Adalimumab in juvenile idiopathic arthritis-associated chronic anterior uveitis // Rheumatology. — 2007. — Vol. 47. — P. 339—344.

Поступила 01.03.12

**Сведения об авторах:** Катаргина Л. А., д-р мед. наук, проф., зам. дир. по научной работе, зав. отд. патологии глаз у детей; Денисова Е. В., канд. мед. наук, ст. научн. сотр. отд. патологии глаз у детей; Слепова О. С. д-р биол. наук, проф., рук. лаборатории иммунологии и вирусологии; Старикова А. В., канд. мед. наук, зав. клиникой отд. патологии глаз у детей; Любимова Н. В., аспирант каф. ФПДО МГМСУ; Осипова Н. А., ординатор; Петровская М. С., врач-вирусолог лаборатории иммунологии и вирусологии Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.

**Для контактов:** Денисова Екатерина Валерьевна, 105062, Москва, Садовая-Черногрозская, 14/19, Телефон: (495) 625-92-33.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 617.735-053.32-06-092:612.017.1]-078.33

Л.А. Катаргина, О.С. Слепова, М.В. Белова, А.Е. Андрюшин

## ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОЗДНИХ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Отдел патологии глаз у детей, лаборатория иммунологии и вирусологии ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздравсоцразвития России

У 44 пациентов (возраст от 5 мес до 22 лет) с рубцовой и регрессивной стадиями ретинопатии недоношенных (РН) I—V степени исследовали содержание в сыворотке крови 9 цитокинов и ростовых факторов (с помощью проточного цитофлюориметра, мультиплексного анализа). Больные были разделены на

4 группы в зависимости от наличия и характера поздних витреоретинальных осложнений РН. Показано, что наиболее значимым дефектом в системе иммунорегуляции (в рамках изучавшихся параметров), связанным с ривитием дистрофий и отслоек сетчатки, является дефицит TGF  $\beta_1$ . Усугубляющими факторами могут явиться усиление системной продукции VEGF и провоспалительных цитокинов.

*Ключевые слова:* ретинопатия недоношенных, рубцовая регрессивная стадия, дистрофии и отслойки сетчатки, факторы роста (TGF  $\beta$ , VEGF), фактор некроза опухоли, интерлейкины, сыворотка крови

#### THE ROLE OF THE COMPROMISED CYTOKINE STATUS IN PATHOGENESIS OF LATE VITREORETINAL COMPLICATIONS OF RETINOPATHY IN PREMATURE INFANTS

*L.A. Katargina, O.S. Slepova, M.V. Belova, A.E. Andryushin*

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases

A total of 44 patients at the age from 5 months to 22 years presenting with cicatricial and regressive stages of grade I-V retinopathy of prematurity (ROP) were available for the examination. The levels of 9 cytokines and growth factors were measured in their sera with the use of the flow cytometry technique and multiplex analysis. The patients were allocated to four groups depending on the presence and character of late vitreoretinal complications of ROP. It was shown that the deficiency of tumour necrosis factor beta-1 of all the parameters studied responsible for the development of dystrophy and retinal detachment constitutes the most important defect in the immunoregulatory system. The enhanced systemic production of VEGF and proinflammatory cytokines was the aggravating factor.

*Key words:* retinopathy of prematurity, cicatricial and regressive stages, retinal dystrophy and detachment, growth factors (TGF beta-1, VEGF), tumour necrosis factor-alpha, interleukins, blood sera

Профилактика и лечение поздних осложнений ретинопатии недоношенных (РН), в частности отслоек и дистрофий сетчатки, является одной из наиболее трудных проблем детской офтальмологии [3, 7]. Сложности, связанные со своевременным прогнозированием и профилактикой их развития, во многом обусловлены недостаточными знаниями патогенеза, включая роль иммунологического дисбаланса. Вместе с тем в настоящее время накоплены данные о нарушениях иммунитета у преждевременно родившихся детей, особенно при признаках патологии [1], и о наличии связи между возникновением и характером течения РН и усугублением иммунологических сдвигов (дисбаланс продукции ряда цитокинов и ростовых факторов, появление антиретинальных аутоантител) [2, 5, 6]. В ранее проведенных нами исследованиях выявлена ассоциация отягощенного течения заболевания (осложнения РН, сопутствующая офтальмопатология, тяжелые двусторонние процессы) с гиперпродукцией VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) и/или IGF-I (инсулиноподобный фактор роста) [4].

**Цель работы** — изучение роли ростовых факторов (VEGF, TGF  $\beta_1$ ), фактора некроза опухоли и интерлейкинов в развитии поздних витреоретинальных осложнений у детей с РН.

**Материал и методы.** Иммунологическое исследование проведено у 44 пациентов в возрасте от 5 мес до 22 лет с рубцовой и регрессивной стадиями РН I—V степени. Большинство составили больные с IV (27,3%) и V (34,1 %) степенью РН; II и III степень отмечены у 18,2% пациентов каждая, I — у 2,2% (1 случай). Больные были разделены на 4 группы в зависимости от наличия и характера имеющихся поздних осложнений РН. В I группу вошли 13 пациентов с отслойками сетчатки, в том числе 5 (средний возраст  $12,6 \pm 1,2$  года) с ретинальными дистрофиями (РД) и 8 без РД (средний возраст  $9,1 \pm 2,4$  года); II группу составили 8 пациентов с РД без отслоек сетчатки (средний возраст  $10,5 \pm 1,2$  года); III — 5 (средний возраст  $8,1 \pm 1,7$  года) с РД на одном глазу и осложнениями переднего сегмента на парном глазу, IV — 18 (средний возраст  $6,6 \pm 1,2$  года) без каких-либо осложнений.

Определяли содержание в сыворотке крови (СК) 9 цитокинов: интерлейкинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10), фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) и VEGF одновременно; трансформирующего фактора роста (TGF  $\beta_1$ ) отдельно (в связи со специальными требованиями пробоподготовки). Исследование проводили на проточном цитофлюориметре (BD FACSCanto II) в программе BD FACSDiva с помощью наборов CBA для определения концентрации человеческих цитокинов («BD Biosciences», США). Обработку данных выполняли в программе FCAP Array («SoftFlow», США).

Выбор тестов был обусловлен имеющимися в литературе данными об участии некоторых из указанных цитокинов в патогенезе собственно РН и теоретическими представлениями о возможной их роли в развитии и прогрессировании дистрофических процессов в сетчатке за счет реализации разнообразных биологических эффектов. Известно, что IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  обладают провоспалительными свойствами, IL-4 и IL-10 являются их антагонистами, а IL-8 — ключевым хемотаксическим фактором; VEGF обладает ангиогенными свойствами, а TGF  $\beta_1$  оказывает иммуносупрессивное и антипролиферативное действие.

**Статистическую обработку** данных проводили в программе BIOSTATD (по критериям Стьюдента и Фишера).

**Результаты и обсуждение.** Сравнительный анализ результатов иммунологического исследования выявил существенные различия между больными с наличием отслоек сетчатки (I группа) и /или РД (II и III группы) и пациентами без осложнений РН (IV группа). Это проявлялись прежде всего разницей уровней ростовых факторов — VEGF и особенно TGF  $\beta_1$  (при 100% частоте выявления обоих).

Обнаружено, что содержание TGF  $\beta_1$  в СК у детей без осложнений было достоверно выше, чем у детей с РД (в среднем в 2,6 раза;  $p = 0,035$ ) и особенно у детей с отслойками сетчатки (в 6,2 раза;  $p = 0,006$ ), причем при отслойках сетчатки оно значительно снижалось и по сравнению с РД без отслоек (в 2,4 раза;  $p = 0,000$ ) (рис.1).

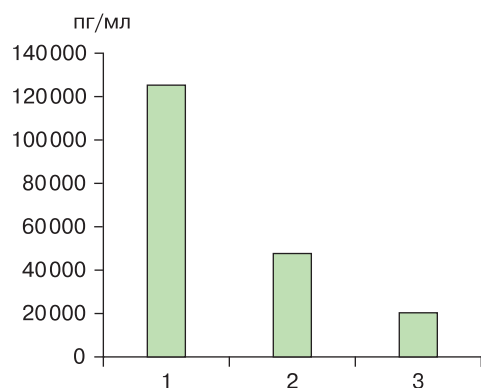


Рис. 1. Содержание TGF β1 в сыворотке крови у детей без осложнений и с витреоретинальными осложнениями РН. Здесь и на рис. 2, 3: по оси абсцисс: 1 — группа IV: без осложнений; 2 — группы II и III: ретинальные дистрофии; 3 — группа I: отслойки сетчатки. Здесь и на рис. 2: по оси ординат: концентрация в пг/мл (средний уровень по группе).

Содержание VEGF в СК у детей с отслойками сетчатки и в меньшей степени с РД без отслоек, напротив, имело тенденцию к повышению по сравнению с пациентами без осложнений (соответственно  $p = 0,055$  и  $p = 0,13$ ) (рис. 2). Подтвердить эту тенденцию статистически удалось при анализе частоты выявления максимально повышенных (более 100 пг/мл) уровней VEGF (среди зафиксированных в данном исследовании в пределах 48—296 пг/мл). В группе без осложнений зарегистрирован только 1 такой случай (6,3%), при РД без отслоек сетчатки — 37,5% ( $p = 0,09$ ), при наличии отслоек — 90% ( $p = 0,000$  и  $p = 0,043$  соответственно).

Менее выраженные, но тем не менее привлекавшие внимание сдвиги выявлены при исследовании TNF-α, а также IL-1β и IL-2 (рис 3).

У больных с РД и отслойками сетчатки (I-III группы) вдвое чаще, чем у детей без осложнений РН, обнаруживали провоспалительные цитокины — TNF-α (соответственно 50 и 25%) и IL-1β (62,5 и 35%). При этом случаи выраженного повышения уровня TNF-α ( $\geq 600$  пг/мл) при отслойках сетчатки выявлялись достоверно чаще (23,1%), чем в других группах (3,7%;  $p = 0,024$ ), включая РД без отслоек. Разница между больными с отслойками сетчатки (I группа) и детьми

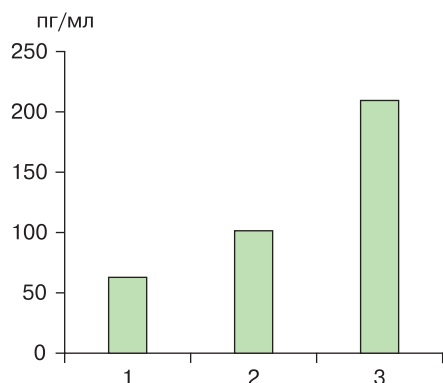


Рис. 2. Содержание VEGF в сыворотке крови у детей без осложнений и с витреоретинальными осложнениями РН.

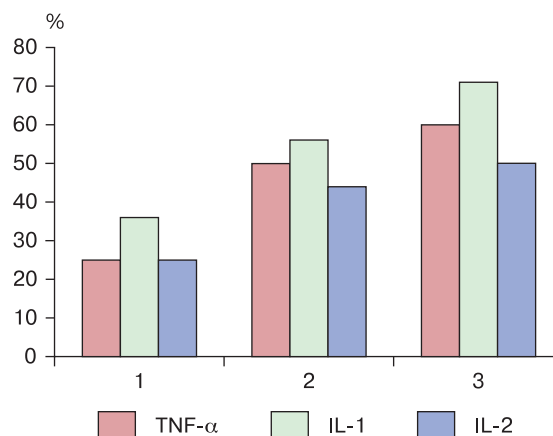


Рис. 3. Частота выявления провоспалительных цитокинов и IL-2 в сыворотке крови у детей без осложнений и с осложнениями РН.

По оси ординат: % (частота выявления)

с РД без отслоек (II—III группы) была подтверждена и при сравнении средних уровней TNF-α (  $445 \pm 128$  пг/мл и  $12 \pm 1,6$  пг/мл соответственно;  $p = 0,027$ ).

Существенных различий в уровнях IL-1β в СК при сравнении средних групповых показателей, как и при индивидуальном анализе (диапазон от 60 до 480 пг/мл), мы не выявили, несмотря на отмеченное выше явное нарастание частоты его обнаружения у детей с отслойками сетчатки.

IL-2 так же, как TNF-α и IL-1β, чаще выявлялся в СК у детей с РД (40%) и/или отслойками сетчатки (45%), но разница в сравнении с остальными больными (22,2%) была менее заметной ( $p = 0,22$ ). Достоверные различия между группами при сравнении средних и индивидуальных уровней IL-2 не обнаружены.

Показатели системной продукции остальных исследованных цитокинов в сравниваемых группах оказались сопоставимыми; каждый из них обнаруживался во всех исследованных пробах СК с минимальным разбросом уровней: IL-4 в пределах 160—232 пг/мл, IL10 — 31—37 пг/мл; IL-6 — 88—107 пг/мл, IL-8 — 121—148 пг/мл (за одним исключением — 271 пг/мл у больного с РД).

### Заключение

Таким образом, полученные нами при исследовании СК данные отражают разнонаправленность сдвигов в системной продукции двух ростовых факторов при развитии поздних отслоек сетчатки у детей с РН: умеренное повышение ангиогенного фактора VEGF при явном снижении TGF β<sub>1</sub>. По-видимому, именно дефицит TGF β<sub>1</sub>, а следовательно, ослабление иммуносупрессивных и антипролиферативных эффектов является наиболее значимым дефектом в системе иммунорегуляции (в рамках изучавшихся параметров), негативно влияющим на исход РН, способствуя прогрессированию пролиферации в глазу и повышая тем самым риск возникновения отслоек сетчатки. Это согласуется с данными клинических исследований тракционного характера поздних отслоек сетчатки при РН [3].

Определенное влияние на развитие отслоек сетчатки оказывает, по-видимому, и продукция провоспалительных цитокинов — TNF-α и в меньшей степени — IL-1β, а также IL-2 — Т-клеточного ростового

фактора, способствующего развитию аутоиммунных реакций. Ранее нами была показана роль тканеспецифических антител к S-антигену сетчатки в патогенезе РН [2]. Нельзя исключить, что выработка этих медиаторов может быть индуцирована сопутствующими экзогенными или эндогенными факторами (простуды, стрессы и т. д.) или явиться остаточным проявлением нарушений цитокинового статуса, характерных для преждевременно родившихся детей [1, 5]. Независимо от причины, усиление секреции ангиогенных и провоспалительных цитокинов может усугубить течение патологического процесса в глазу, развивающегося на фоне ослабления иммуносупрессивных и антипролиферативных эффектов, связанных в частности с дефицитом TGF  $\beta_1$ .

Следует отметить, что выявленные иммунологические сдвиги были обнаружены при исследовании крови, т. е. проявлялись на системном уровне. Однако достоверная связь с развитием поздних осложнений РН (отслойки сетчатки и/или РД) позволяет рассматривать их как патогенетически значимый фактор. В связи с этим встает вопрос о необходимости и возможности соответствующей иммунокоррекции, прежде всего устранении дефицита TGF  $\beta_1$  а в ряде случаев — подавлении избыточной продукции VEGF и провоспалительных цитокинов. Мы полагаем, что для решения этого вопроса необходимы целенаправленные исследования на более обширном клиническом материале.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дегтярева М.В., Дегтярев Д.Н., Володин Н.Н., Ковальчук Л.В. Роль интерлейкина-1 и фактора некроза опухолей

у новорожденных детей в норме и патологии // Педиатрия. 1996. № 1. С. 93—97.

2. Катаргина Л.А., Слепова О.С., Скрипеч П.П. и др. Гуморальный иммунный ответ на S-антиген сетчатки и его роль в развитии и течении ретинопатии недоношенных // Вестн. офтальмол. — 2003. — № 1. С. 20—22.
3. Катаргина Л.А., Коголева Л.В., Белова М.В., Денисова Е.В. Поздние отслойки сетчатки при ретинопатии недоношенных // Офтальмохирургия. — 2009. — № 3. С. 31—34.
4. Слепова О.С., Катаргина Л.А., Гвоздюк Н.А., Белова М.В. Влияние системной продукции ростовых факторов (VEGF и IGF-I) на течение заболевания у детей с ретинопатией недоношенных // Рос. офтальмол. журн. — 2011. — Т. 4, № 4. С. 60—64.
5. Hellstrom A., Perruzzi C., Ju M. et al. Low IGF-I suppresses VEGF-survival signaling in retinal endothelial cells: Direct correlation with clinical retinopathy of prematurity // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 2001. — Vol. 98, № 10. — P. 5084—5088.
6. Sonmez K., Drenser K.A., Caoine A.Jr., et al. Vitreous levels of stromal cell-derived factor 1 and vascular endothelial growth factor in patients with retinopathy of prematurity // Ophthalmology. — 2008. — V. 115. — P. 1065—1070.
7. Tufail A. et al. late onset vitreoretinal complications of regressed ROP // Br. J. Ophthalmol. — 2004. — V. 88. — P. 243—246.

Поступила 22.08.12

**Сведения об авторах:** Катаргина Л. А., д-р мед. наук, проф., зам. дир. по научной работе, рук. отд. патологии глаз Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца; Слепова О. С., д-р мед. наук, проф., рук. лаборатории иммунологии и вирусологии Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца; Белова М. В., врач детского хирургического отд. Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца; Андришин А. Е., науч. сотр. лаборатории иммунологии и вирусологии Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.

**Для контактов:** Слепова Ольга Семеновна, 105062, Москва, Садовая-Черногрозская, 14/19. Телефон: 8 (495) 624-57-14.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 617.764-008.811.4-02:617.721.6-002]-07

Л.А. Катаргина, Ю.П. Шестова, Е.В. Денисова

## СИНДРОМ СУХОГО ГЛАЗА ПРИ ЭНДОГЕННЫХ УВЕИТАХ У ДЕТЕЙ

ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздравсоцразвития России

У 47 детей с эндогенными увеитами различной локализации и этиологии изучены суммарная слезопродукция и стабильность прероговичной слезной пленки. Отмечена высокая частота развития синдрома сухого глаза (ССГ) (85%), в том числе с умеренной и тяжелой степенью снижения слезопродукции в 28% случаев, стабильности слезной пленки — в 46%. Установлен мультифакториальный характер ССГ при увеитах. Выявлена связь его развития с длительностью и частотой рецидивов увеита, наличием системного ревматического заболевания, местной противовоспалительной и гипотензивной терапией, системным иммуносупрессивным лечением, проведением хирургических вмешательств на переднем отрезке глаза. Обнаружена связь развития дистрофических изменений роговицы с ССГ. Обоснована необходимость ранней диагностики ССГ при увеитах назначения слезозаместительной терапии.

*Ключевые слова:* эндогенные увеиты у детей, синдром сухого глаза, суммарная слезопродукция, стабильность прероговичной слезной пленки

DRY EYE SYNDROME ASSOCIATED WITH ENDOGENOUS UVEITIS IN THE CHILDREN

L.A. Katargina, Yu.P. Shestova, E.V. Denisova

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases

A total of 47 children with uveitis of different localization and etiology were available for the estimation of overall lacrimation and stability of the precorneal lacrimal film. The study demonstrated a high frequency of dry eye syndrome (DES) diagnosed in 85% of the patients suffering the moderately or strongly impaired lacrimation and stability of the precorneal lacrimal film (in 46% and 28% of the cases respectively). The multi-factor character of dry eye syndrome was documented. Its development was shown to be related to the frequency of relapses of uve-