

УДК 617.7-007.681:612.017.1

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА И ИМПЛАНТАТА НА ТЕЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПОСЛЕ МИКРОИНВАЗИВНОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ГЛУБОКОЙ СКЛЕРЭКТОМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

© И.Л. Еременко

*Ключевые слова:* открытоугольная глаукома; цитокины; имплантаты; репаративные процессы.

В ходе настоящего исследования отмечена активация иммунной системы, которая проявляется увеличением количества провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. По характеру их количественных показателей и их взаимодействию можно говорить о регулируемом процессе активации иммунной системы в благоприятной группе, а также о дисрегуляции, которая зафиксирована в группе с наличием факторов риска уже в дооперационном периоде.

Неосложненное проведение операции не исключает возможность развития избыточной пролиферации с переходом в рубцовый процесс [1–4].

Известно, что его распространенность во многом зависит от сопутствующих факторов риска, к которым отнесены стадия глаукоматозного процесса, наличие псевдоэкссфолиативного синдрома [1; 4].

При этом в ходе активации пролиферативного процесса могут образовываться склеро-склеральные и склеро-конъюнктивальные уплотнения, препятствующие фильтрации внутриглазной влаги через трабекуло-десцеметову мембрану. Их раннее появление до формирования новых путей оттока может снижать эффективность всего хирургического вмешательства [1–2].

Дренажные устройства и внутриглазные имплантаты все чаще становятся неотъемлемой составляющей современных микроинвазивных вмешательств при глаукоме, обеспечивая сохранение топографии, сформированной дренажной зоны, интрасклеральной полости (ИСП) и активируя фильтрующую функцию трабекуло-десцеметовой мембраны (ТДМ) [2; 5–9].

В последние годы большое значение в механизмах развития избыточных пролиферативных реакций уделяется нарушению иммунного статуса [1–4; 10–17].

В ряде научных публикаций показано, что у пациентов с ПОУГ выявлены нарушения функционального состояния иммунной системы, включая дисбаланс цитокинов, в т. ч. и во взаимосвязи с активацией пролиферативных процессов [1–4].

Доказано, что повышение ряда провоспалительных цитокинов имеет прогностическое значение в развитии послеоперационной реакции на хирургическое вмешательство и влияет на частоту развития осложнений. При этом значение имеет не только факт повышения провоспалительных цитокинов, но и их взаимодействие с противовоспалительными и регуляторными цитокинами. Наличие цитокинового дисбаланса может иметь прогностическую ценность в оценке влияния на хирургическое вмешательство и используемый имплантат в прогнозе пролиферативных реакций в послеоперационном периоде [2; 12–13; 16–17].

Все вышеизложенное позволило сформулировать **цель** настоящего исследования – изучить характер нарушений местного иммунного статуса по исследованию в слезной жидкости относительного соотношения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у пациентов с ПОУГ, оперированных методом МНГСЭ с использованием отечественного гидрогелевого дренажа (ЭТП МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова) и дренажной субстанции Healaflo (Anteis, Швейцария) с учетом наличия и выраженности факторов риска осложнений.

Исследования проведены у 74 пациентов (74 глаза) с первичной открытоугольной глаукомой, которым выполнена операция МНГСЭ по стандартной технологии с применением имплантатов.

Общепринятые методы исследования, которые включали визометрию, тонометрию, периметрию, офтальмометрию, гониоскопию, были дополнены ультразвуковой биомикроскопией на аппарате «SONOMED» (США), для оценки линейных и объемных параметров ИСП и ТДМ в течение 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев после операции.

Забор СЖ выполняли до и на 1-е сутки после операции. Слеза забиралась в количестве 100 мкл автоматической пипеткой из нижнего конъюнктивального свода в сухую герметичную пробирку.

Многолетний опыт по анализу результатов хирургического лечения глаукомы позволил выявить ситуации, наиболее неблагоприятные для течения послеоперационного периода, определенные как факторы повышенного риска возможных осложнений. К ним отнесены молодой возраст, далекозашедшая стадия глаукомы, наличие в прошлом хирургических вмешательств, псевдоэкссфолиативный синдром [1].

С учетом указанных факторов риска сформированы две основные группы с учетом исходного состояния и прогноза хирургического лечения (рис. 1).

Каждая основная группа разделена на две подгруппы в зависимости от используемого имплантата (рис. 1). В I группу отобраны пациенты с начальной и развитой стадиями глаукомы, группа обозначена как «благо-

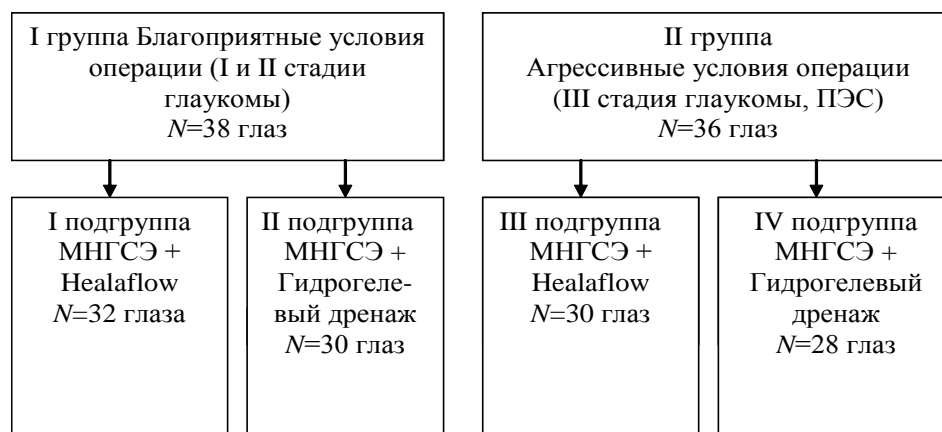


Рис. 1. Схема распределения пациентов по группам

Таблица 1

Локальный цитокиновый статус пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в предоперационном периоде

Цитокин (пг\мл)	I группа Благоприятная группа до операции $M \pm m$ ( $N = 38$ ) (1)	II группа Агрессивная группа до операции $M \pm m$ ( $N = 36$ ) (2)	Контроль ( $N = 10$ ) (к)	Достоверность
Провоспалительные цитокины				
IL1 $\beta$	39,71 $\pm$ 13,83	54,56 $\pm$ 15,14	18,2 $\pm$ 3,55	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
TNF $\alpha$	45,58 $\pm$ 7,07	54,90 $\pm$ 13,48	33,5 $\pm$ 2,08	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
IL6	25,89 $\pm$ 3,93	17,89 $\pm$ 3,50	9,6 $\pm$ 1,52	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
Противовоспалительные цитокины				
IL10	46,33 $\pm$ 6,78	36,00 $\pm$ 5,27	24,2 $\pm$ 2,48	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
IL1Ra	438,49 $\pm$ 193,31	510,32 $\pm$ 237,89	260 $\pm$ 32,48	$P_{к1} < 0,05$
Хемоаттрактант				
IL8	68,66 $\pm$ 9,41	42,96 $\pm$ 5,13	32 $\pm$ 2,41	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
Регуляторные цитокины				
IL4	19,25 $\pm$ 5,38	39,48 $\pm$ 24,84	14,9 $\pm$ 2,70	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$
INF $\gamma$	36,61 $\pm$ 7,68	121,58 $\pm$ 55,72	40 $\pm$ 0,47	$P_{к1} < 0,05$ $P_{12} < 0,01$

приятная» по прогнозу пролиферативных реакций. Во II группу вошли пациенты с далекозашедшей стадией глаукомы и псевдоэкзофталмическим синдромом II и III стадии. Группа обозначена как «агрессивная» в плане неблагоприятного прогноза по активности пролиферативных реакций в послеоперационном периоде в структурах дренажной системы, созданных операциями.

Обе группы были сопоставимы по возрасту, который составил в среднем  $67 \pm 5$  лет. Среди обследованных были 41 женщина и 33 мужчины.

Иммунологические исследования локального цитокинового статуса у больных с первичной открытоугольной глаукомой включали оценку уровня цитокинов иммунной системы с преимущественным провоспалительным (IL1, TNF $\alpha$ , IL6, IL8) и противовоспалительным (IL10, IL1Ra), а также уровней регуляторных цитокинов (IL4, INF $\gamma$ ) [10–11; 17]. Контролем служили данные, полученные при обследовании 10 практически здоровых добровольцев.

Цитокиновые параметры оценивали иммуноферментным методом (ИФА) с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием компьютерной программы Statistica 10. Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в таблицах в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках

оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Корреляцию показателей вычисляли по методу Спирмена. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ( $p < 0,05$ ).

В результате проведенных исследований были получены данные, представленные в табл. 1.

Послеоперационный анализ иммунного статуса был изучен с учетом клинического течения после МНГСЭ, а также в зависимости от применяемого имплантата.

Послеоперационный анализ иммунного статуса был изучен с учетом клинического течения после МНГСЭ, а также в зависимости от применяемого имплантата (табл. 2–3).

Сравнительный анализ локального цитокинового статуса после операции выявил незначительные изменения цитокинов провоспалительного и противовоспалительного ряда в обеих группах по уровню концентрации IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL6, а также IL10 и IL1Ra. Однако достоверное увеличение регуляторных цитокинов в

«агрессивной» группе проявило себя и в послеоперационном периоде. Концентрация INF $\gamma$  составила 77,32 пг/мл в благоприятной группе против 109,20 пг/мл ( $p < 0,05$ ) в агрессивной группе.

Динамические изменения цитокинов с учетом применяемого имплантата особенно наглядны в группе с гидрогелевым имплантатом (табл. 2–3). У пациентов благоприятной группы особо стоит отметить превышение концентрации TNF $\alpha$  в 2 раза ( $p < 0,05$ ), чем в группах с применением гидрогелевого имплантата. Динамика изменений концентрации INF $\gamma$  превышала в 12 раз ( $p < 0,01$ ) в группе с гидрогелевым имплантатом. В агрессивной группе статистически достоверными ( $p < 0,01$ ) оказались изменения INF $\gamma$  и IL8. В группе МНГСЭ с имплантацией Healaflow произошло снижение концентрации регуляторного INF $\gamma$  – основного медиатора Th1 клеточного звена на 38,37 пг/мл, в то время как в группе после МНГСЭ с гидрогелевым имплантатом выявилось повышение INF $\gamma$  на 38,57 пг/мл.

Таблица 2

Особенности местного цитокинового статуса после МНГСЭ с имплантацией гидрогелевого имплантата

Цитокин	I группа Благоприятная группа $M + m (N = 38)$		II группа Агрессивная группа $M + m (N = 36)$		Достоверность
	до операции (1)	после операции (2)	до операции (3)	после операции (4)	
Провоспалительные цитокины					
IL1 $\beta$	33,7 $\pm$ 19,90	40,09 $\pm$ 4,73	8,2 $\pm$ 18,9	42,7 $\pm$ 3,76	
TNF $\alpha$	48,9 $\pm$ 12,95	79,4 $\pm$ 20,5	59,8 $\pm$ 12,67	58,4 $\pm$ 15,59	$P_{1/2} < 0,05$
IL6	21,4 $\pm$ 2,55	27,6 $\pm$ 26,78	16,5 $\pm$ 4,52	17,41 $\pm$ 1,71	
Противовоспалительные цитокины					
IL10	41,2 $\pm$ 2,01	32,8 $\pm$ 7,97	36,5 $\pm$ 5,37	30,6 $\pm$ 4,84	
IL1Ra	479 $\pm$ 303,4	545,7 $\pm$ 200,32	528,8 $\pm$ 173,11	537 $\pm$ 332,1	
Хемоаттрактанты					
IL8	67,6 $\pm$ 14,9	77,1 $\pm$ 7,38	42,3 $\pm$ 2,16	75,5 $\pm$ 8,5	$P_{3/4} < 0,01$
Регуляторные цитокины					
IL4	16,95 $\pm$ 1,28	59,8 $\pm$ 91,64	39,6 $\pm$ 23,65	34,8 $\pm$ 38,43	
INF $\gamma$	40,8 $\pm$ 14,86	123,5 $\pm$ 24,42	108,3 $\pm$ 34,37	149,5 $\pm$ 18,0	$P_{1/2} < 0,01$ $P_{3/4} < 0,01$

Таблица 3

Особенности местного цитокинового статуса после МНГСЭ с имплантацией Healaflow

Цитокин	I группа Благоприятная группа $M + m (N = 38)$		II группа Агрессивная группа $M + m (N = 36)$		Достоверность
	до операции (1)	после операции (2)	до операции (3)	после операции (4)	
Провоспалительные цитокины					
IL1 $\beta$	40,9 $\pm$ 13,55	41,8 $\pm$ 6,22	53,2 $\pm$ 15,10	44,2 $\pm$ 6,37	
TNF $\alpha$	44,3 $\pm$ 4,62	68,7 $\pm$ 14,3	47,8 $\pm$ 12,3	70,5 $\pm$ 16,38	$P_{1/2} < 0,05$
IL6	28,4 $\pm$ 12,38	43,9 $\pm$ 17,35	18,7 $\pm$ 1,51	20,5 $\pm$ 5,45	
Противовоспалительные цитокины					
IL10	48,8 $\pm$ 6,90	43 $\pm$ 7,74	37,7 $\pm$ 4,52	48,6 $\pm$ 23,0	
IL1Ra	445,3 $\pm$ 155,36	309,2 $\pm$ 150,95	474,4 $\pm$ 307,61	284,8 $\pm$ 92	
Хемоаттрактанты					
IL8	66,9 $\pm$ 5,29	61,9 $\pm$ 8,51	44,6 $\pm$ 8,5	59,0 $\pm$ 12,7	$P_{3/4} < 0,01$
Регуляторные цитокины					
IL4	20,9 $\pm$ 6,21	23,73 $\pm$ 13,14	36,5 $\pm$ 20,72	20,9 $\pm$ 5,84	
INF $\gamma$	35,3 $\pm$ 4,49	45,3 $\pm$ 12,08	103,4 $\pm$ 48,39	57,9 $\pm$ 34,70	$P_{1/2} < 0,01$ $P_{3/4} < 0,01$

Таблица 4

Данные корреляционного анализа

Показатель 1	Показатель 2	Коэффициент корреляции $r$
TNF $\alpha$	ТДМ	-0,56
IL10	ТДМ	0,55
IL4	ИСП	-0,7
IL6	ИСП	0,71
IL10	ИСП	0,72
IL8	ИСП	0,78

Значение цитокина IL8 возросло на 12,93 пг/мл в группе с Healaflo и на 33,57 пг/мл в группе с имплантацией гидрогелевого дренажа (табл. 2–3).

При оценке сформированных дренажных путей на фоне компенсации офтальмотонуса в группе неосложненного течения параметры ИСП достигали от 0,37 до 0,67 мм ( $0,45 \pm 0,11$  мм), параметры ТДМ достигали 0,05–0,09 мм (0,07 мм) к концу срока наблюдения. Полученные данные были оценены в корреляции с цитокинами.

При проведении корреляционного анализа были получены результаты, представленные в табл. 4.

В ходе настоящего исследования отмечена активация иммунной системы, которая проявляется увеличением количества провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. По характеру их количественных показателей и их взаимодействию можно говорить о регулируемом процессе активации иммунной системы в благоприятной группе, а также о дисрегуляции, которая зафиксирована в агрессивной группе уже в дооперационном периоде.

Благоприятная группа характеризовалась увеличением провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$ , которые способны стимулировать синтез целого пула провоспалительных цитокинов, молекул межклеточной адгезии и других биологически активных веществ [10–13]. Аналогичная закономерность обнаружена и для IL8-хемокина, играющего важную роль в развитии деструктивно-воспалительных процессов различного генеза в местах повреждения [10–13]. В то же время наличие цитокинов, которые обладают иммуносупрессивными свойствами – IL1Ra, IL10, свидетельствует об активной регуляции ответной реакции глаза по Th1 адаптивному типу иммунного ответа и может говорить о прогнозировании неосложненного течения послеоперационного периода [1; 3].

Анализируя полученные результаты в исследованной агрессивной группе, стоит обратить внимание на достоверное ( $p < 0,01$ ) увеличение концентрации IL4 и INF $\gamma$ . Полученные данные можно рассматривать не только как компенсаторный механизм, направленный на снижение активности воспалительного процесса, но и как свидетельство активации гуморального звена иммунной системы и развития аутоиммунного реагирования у пациентов агрессивной группы. Кроме того, повышение концентрации IL4 и INF $\gamma$  свидетельствует об участии этих цитокинов в фибропластических процессах, играющих значимую роль в развитии рубцовых изменений сформированных путей оттока [1; 4].

Также наше внимание было обращено на повышение провоспалительной активности в 3 раза и трактуется по ряду параметров как группа риска, предрасполо-

женная к преобладанию пролиферативных реакций в структурах сформированной дренажной зоны после хирургического лечения глаукомы.

При изучении данных послеоперационного периода следует отметить, что количественные показатели IL1 $\beta$ , IL6, IL4, IL10 во всех группах не имели статистически достоверной разницы, что может свидетельствовать о малой инвазии и низкой травматичности хирургического вмешательства. Однако активация регуляторного звена в агрессивной группе по-прежнему превышала показатели благоприятной группы.

Особо стоит отметить динамические изменения провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , хемокина IL8 и INF $\gamma$ , которые явились результатом активации иммунитета в ответ на оперативное вмешательство и дополнительную антигенную нагрузку различных имплантатов.

Выявленные коррелятивные взаимосвязи свидетельствуют о сопряженности иммунного дисбаланса и активности пролиферативного процесса в структурах сформированной дренажной системы.

Общее повышение провоспалительных цитокинов не сказалось у больных в послеоперационном периоде на клиническом течении. В агрессивной группе с наличием связи провоспалительных и регуляторных цитокинов не было клинических проявлений, но при проведении ультразвукового исследования мы увидели более ранние проявления пролиферативного процесса в структурах дренажной системы. Появление включений на структурах дренажной системы и в единичных случаях уплотнение вокруг интрасклеральной полости можно было трактовать как начало формирования капсулы. Такие изменения встречались в 2–3 раза чаще в агрессивной группе.

## ВЫВОДЫ

1. Повышение концентрации цитокинов было достоверно ( $p < 0,01$ ) больше в прогностически неблагоприятной группе по возможности возникновения осложнений в послеоперационном периоде: концентрация INF $\gamma$  регулятора Th1 иммунного ответа в 3 раза превышала показатели группы «благоприятного» прогноза.

2. Повышение уровня цитокинов в слезной жидкости в сравниваемых группах пациентов с первичной открытоугольной глаукомой позволило выявить корреляционную связь иммунологических и клинико-функциональных параметров в оценке выраженности деструктивных процессов в глазу.

3. Впервые представленный дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами в слезной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в сторону провоспалительных цитокинов является объективным критерием активности пролиферативного процесса и должен учитываться при использовании различных дренажных устройств.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Ганковская О.А., Дугина А.Е. Изменение некоторых иммунологических показателей слезной жидкости при избыточном рубцевании после антиглаукоматозных операций у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // Вестн. офтальмол. 2010. № 3. С. 25-29.
2. Захидов А.Б. Комбинированное хирургическое лечение первичной открытоугольной глаукомы с локальной иммунокоррекцией репаративных процессов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010.

3. Рукина Д.А., Догадова Л.П., Маркелова Е.В. и др. Иммунологические аспекты первичной открытоугольной глаукомы // РМЖ. Офтальмология. 2011. № 4. С. 162-165.
4. Черных В.В., Ходжаев Е.Х., Тахчиди Е.Х., Горбенко О.М. и др. Особенности патогенеза начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы, значимость иммуновоспалительного процесса // Офтальмохирургия. 2011. № 2. С. 50-53.
5. Анисимова С.Ю., Анисимов С.И., Розачева И.В. Хирургическое лечение глаукомы с использованием биологических имплантатов на основе костного коллагена Ксенопласт // Глаукома: теории, тенденции, технологии: сб. науч. тр. М., 2009. С. 46-55.
6. Анисимова С.Ю., Анисимов С.И., Ларионов Е.В. Хирургия глаукомы XXI. М.: Апрель, 2012. С. 50-54.
7. Marchini G., Marraffa M., Brunelli C. et al. Ultrasound biomicroscopy and intraocular-pressure-lowering mechanisms of deep sclerectomy with reticulated hyaluronic acid implant // J. Cataract Refract. Surg. 2001. V. 27 (4). P. S507-S517.
8. Mermoud A. Deep sclerectomy // World Glaucoma Congress. Vienna, 2005. P. 108.
9. Roy S., Thi H., Mermoud A. Crosslinked sodium hyaluronate implant in deep sclerectomy for the surgical treatment of glaucoma // Eur. J. Ophthalmol. 2012. V. 22 (1). S. 6.
10. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология. М.: Гэзтар-Медиа, 2008. 432 с.
11. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
12. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Гэзтар-Медиа, 2011. 640 с.
13. Маркелова Е.В., Костюшко А.В., Красников В.Е. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Тихоок. мед. журнал. 2008. № 3. С. 24-29.
14. Фабрикаитов О.Л. Импульсное низкоинтенсивное лазерное излучение ближнего инфракрасного диапазона в коррекции воспалительных реакций после экстракции катаракты с имплантацией интраокулярных линз: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2001.
15. Ярлин А.А. Иммунология. М.: ГЭО-ТАР-Медиа, 2010. 752 с.
16. Balaiya S., Edwards J., Tillis T. et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma // Clin. Ophthalmol. 2011. V. 5. P. 553-556.
17. Chua J., Vania M., Cheung C.M.G. et al. Expression profile of inflammatory cytokines in aqueous from glaucomatous eyes // Molecular Vision. 2012. V. 18. P. 431-438.

Поступила в редакцию 9 февраля 2015 г.

Eremenko I.L. EVALUATION OF INFLUENCE OF IMMUNE STATUS AT THE FLOW OF REPARATIVE PROCESSES AFTER MICROINVASIVE NONPENETRATING DEEP SCLERECTOMY AT PATIENTS WITH INITIAL OPEN ANGLE GLAUCOMA

Research showed an activation of immune system manifested by an increased quantity of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. The nature of the quantity and their interacting suggests a controlled process of immune system activation and a deregulation in the aggressive group as early as at the preoperative stage.

*Key words:* open angle glaucoma; cytokines; implants; reparative processes.

Еременко Ирина Леонидовна, МНТК «Микрохирургии глаза» им. акад. С.Н. Федорова, г. Москва, Российская Федерация, аспирант, e-mail: eil-86@mail.ru

Eremenko Irina Leonidovna, Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC "Eye Microsurgery", Moscow, Russian Federation, Post-graduate Student, e-mail: eil-86@mail.ru