

ДИСБАЛАНС ЦИТОКИНОВ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ УВЕИТАМИ

В слезной жидкости 30 пациентов с аутоиммунными увеитами и 20 «практически» здоровых лиц проведено определение ИЛ-17А, ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-4. Установлено, что в патогенезе аутоиммунных увеитов важную роль играет развитие местного воспалительного процесса, что проявляется достоверным повышением в исследуемой биологической жидкости концентраций провоспалительных цитокинов ИЛ-17А и ИЛ-8, сопряженным с нарастанием содержания ИЛ-4 и ИЛ-6, интерлейкинов, участвующих в развитии аутоиммунного реагирования и хронизации воспалительного процесса. Значимость и взаимосвязь активации синтеза изучаемых цитокинов в патогенезе аутоиммунного воспаления подтверждается установленными коррелятивными взаимосвязями.

Ключевые слова: аутоиммунный увеит, цитокины, иммуновоспалительный процесс.

Актуальность

Анализ научной литературы и собственные данные позволяют сделать заключение о широкой распространенности аутоиммунных увеитов, которые составляют практически 50% в структуре всех увеитов и относятся к категории наиболее тяжелых и неблагоприятных иммуновоспалительных процессов в органе зрения. В научных исследованиях убедительно показано, что дебют многих аутоиммунных процессов начинается с возникновения увеита (при спондилоартритах этот факт установлен в 23,9%, при ревматоидном артрите – в 14,8, при ювенильном ревматоидном артрите – в 30% случаев). Характерными чертами патогенеза системных увеитов является их хронически-рецидивирующее течение, большое количество осложнений, приводящих к нарушению зрительных функций, что приводит к высокому уровню инвалидизации, достигающей при тяжелых формах патологического процесса 50–55%. Указанное вызывает неудовлетворенность офтальмологов результатами лечения больных с аутоиммунными увеитами [1, 5, 11].

Известно, что по механизмам развития аутоиммунные увеиты относятся к иммуноопосредованным заболеваниям, которые способны поражать все отделы увеального тракта. Необходимо отметить, что значимым фактором, определяющим тяжелое течение патологического процесса, является иммунокомпроментированность тканевых структур глаза, которая, при нарушении целостности гемато-офтальмического барьера, способна приводить к агрессив-

ному течению патологического процесса. В настоящее время усилия ученых направлены на углубленное изучение иммунных механизмов и дисбаланса синтеза цитокинов и других биологически активных веществ в развитии аутоиммунных увеитов и разработке, на основании полученных данных, новых патогенетически обоснованных методов лечения, способных воздействовать на активность аутоиммунного воспаления в органе зрения [2, 6, 7, 8, 9, 10].

Однако, несмотря на проведенные исследования, представленные в научной литературе, многие аспекты патогенеза аутоиммунных увеитов остаются недостаточно изученными, что определяет актуальность проведения дальнейших исследований.

Все вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить особенности содержания ИЛ-17А, ИЛ-8, ИЛ-4 и ИЛ-6 в слезной жидкости пациентов с аутоиммунным увеитом.

Материал и методы

Обследовано 30 пациентов с аутоиммунными увеитами, которые составили основную группу. Диагноз системного аутоиммунного заболевания установлен ревматологом, направившим пациента на офтальмологическое обследование. Увеит диагностирован на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего визометрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, периметрию, В-ска-

нирование, оптической когерентной томографии макулярной зоны, фоторегистрации переднего отрезка, осмотра глазного дна. Для обследования отобраны пациенты, не получавшие по различным причинам базового лечения системного заболевания.

Возраст пациентов основной группы составил от 18 до 75 ($48,7 \pm 3,6$) лет, из них больных с ювенильным ревматоидным артритом было 4 (13,3%), с ревматоидным артритом – 16 (53,3%), анкилозирующим спондилоартритом – 10 человек (33,4%). Количество женщин в обследованной группе составило 22 (73,3%), мужчин – 8 (26,7%).

В 72% случаев протекал по типу генерализованного увеита, при котором отмечались легкая перикорнеальная инъекция, преципитаты на эндотелии роговицы, помутнение влаги передней камеры, задние синехии, фибринозные отложения в виде прехрусталиковой пленки, клеточная реакция в стекловидном теле, единичные хориоидальные фокусы в фазе рубцевания.

В 15% случаев наблюдали пациентов с иридоциклитом, который характеризовался наличием смешанной инъекции, мелких преципитатов на задней поверхности роговицы, задних синехий.

Периферический увеит диагностирован в 13% случаев и характеризовался наличием единичных преципитатов на роговице, умеренной клеточной реакцией в стекловидном теле, беловато-серым экссудатом на дальней периферии сетчатки, отеком макулярной области.

У большинства пациентов (22 человека – 73,3%) воспалительный процесс был односторонним. У 8 пациентов – двухсторонний характер поражения органа зрения (26,7%).

Осложнения увеита выявлены у 60% больных (18 человек), которые были представлены увеальной катарактой, глаукомой, витреоретинальными тракциями, фиброплазией макулы. У 6 пациентов (20%) были диагностированы сочетанные осложнения.

Для исследования выбрана слезная жидкость как наиболее доступный и атравматичный для пациента при заборе биологический субстрат [3, 4]. Забор слезы проводили из нижнего конъюнктивального свода глаза в сухую герметичную пробирку в количестве 0,3–0,5 мл.

Проведено определение значимых для развития аутоиммунного процесса цитокинов (интерлейкинов) – ИЛ-17А, ИЛ-8, ИЛ-4 и ИЛ-6 [6,

8, 9]. Исследование выполнялось на тест-системах (ООО «Цитокин», Россия) согласно инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм, результаты выражали в пг/мл.

В качестве контрольных значений, определяемых в настоящем исследовании показателей в слезной жидкости, использованы данные обследования 20 лиц аналогичного возраста, у которых отсутствовали аутоиммунные заболевания различных органов и систем, в том числе офтальмологической патологии, способной оказывать влияние на активность воспалительного процесса.

Статистическая обработка полученных данных. Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде графиков. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statgrafics. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p < 0.05$).

У всех обследованных получено информированное согласие на использование данных в научных целях, разрешение комитета по биоэтике на публикацию данных, представленных в настоящей статье (протокол №1 от 15.01.2013).

Результаты исследований

В результате проведенных исследований было показано, что содержание в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами ИЛ-17А, ключевого для активации синтеза многих провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α и ИЛ-1 β , и играющего значимую роль в развитии аутоиммунного реагирования, достоверно, более чем в 6 раз, превышало его содержание в слезе пациентов контрольной группы ($p < 0,05$). Данные представлены на рисунке 1.

Аналогичная динамика выявлена при изучении содержания в слезной жидкости пациентов хемоаттрактанта ИЛ-8, активного участника развития деструктивно-воспалительного процесса различного генеза в местах повреждения.

Концентрация ИЛ-8 в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами достоверно, более чем в 4 раза, превышала его концентрацию в слезной жидкости пациентов контрольной группы ($p < 0,05$). Данные представлены на рисунке 2.

Учитывая существующие данные, свидетельствующие о значимости в развитии аутоиммунного реагирования цитокинов, активирующих иммунный ответ по Т-хелпер-2 опосредованному пути, в настоящем исследовании проведено определение ИЛ-4.

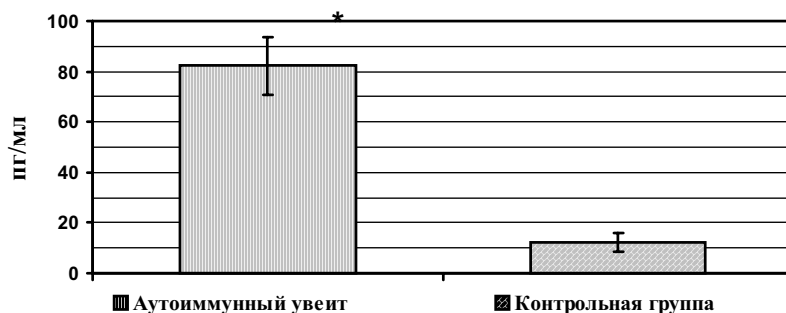
Установлено, что концентрации в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами ИЛ-4 достоверно, более чем в 2 раза, превышали его содержание в слезе пациентов контрольной группы ($p < 0,05$). Данные представлены на рисунке 3.

В результате проведенного исследования в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами было выявлено достоверное, более чем в 3,5 раза, повышение концентраций ИЛ-6, цитокина, обладающего провоспалительными свойствами, а также являющегося, по данным научной литературы, значимым фактором в процессах хронизации воспалительных процессов, в том числе аутоиммунной этиологии.

Для оценки сопряженности изменений изучаемых показателей важным является наличие взаимосвязей между их изменениями в механизмах развития патологического процесса.

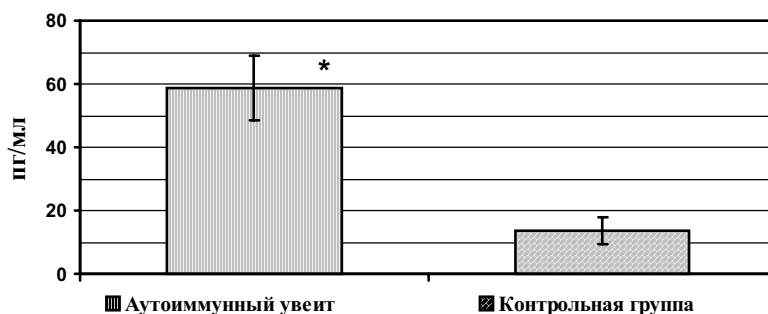
Проведенный корреляционный анализ позволил выявить ряд взаимосвязей между концентрациями изучаемых цитокинов в слезной жидкости при аутоиммунном увеите. Прямые

достоверные взаимосвязи между концентрациями ИЛ-17А и ИЛ-8 ($r=0.5, p<0.05$), между содержанием ИЛ-17А и ИЛ-6 ($r=0.5, p<0.05$) и между концентрациями ИЛ-4 и ИЛ-6 ($r=0.5, p<0.05$). Указанное свидетельствует о сопряженности изменений уровней синтеза изучаемых цитокинов в механизмах развития аутоиммунного увеита.



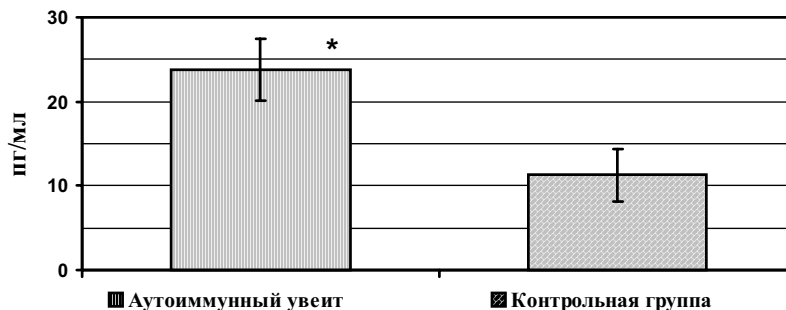
* – достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе ($p < 0.01$)

Рисунок 1. Концентрация ИЛ-17А в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами в сравнении с его концентрацией в слезной жидкости пациентов контрольной группы



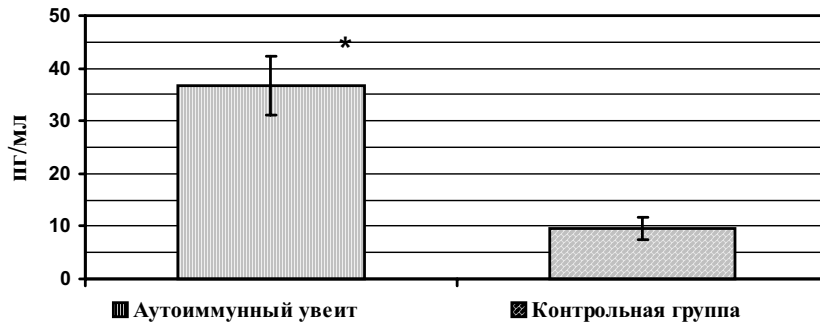
* – достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе ($p < 0.01$)

Рисунок 2. Концентрация ИЛ-8 в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами в сравнении с его концентрацией в слезной жидкости пациентов контрольной группы



* – достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе ($p < 0.01$)

Рисунок 3. Концентрация ИЛ-4 в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами в сравнении с его концентрацией в слезной жидкости пациентов контрольной группы



* – достоверно отличается от значений показателя в контрольной группе ($p < 0.01$)

Рисунок 4. Концентрация ИЛ-6 в слезной жидкости пациентов с аутоиммунными увеитами в сравнении с его концентрацией в слезной жидкости пациентов контрольной группы

Заключение

Для оценки активности местного воспалительного и аутоиммунного реагирования было обследовано 30 пациентов с аутоиммунными увеитами.

В настоящее время существует достаточное количество научных публикаций, посвященных изучению патогенеза аутоиммунных увеитов и роли в нем нарушений цитокиновой регуляции, однако, многие исследования проводились у пациентов на фоне лечения системного аутоиммунного заболевания по различным схемам [2], что накладывало свой отпечаток на особенности продукции определяемых в них иммунологических показателей. В настоящем исследовании было проведено исследование слезной жидкости пациентов с увеитами аутоиммунной эти-

ологии, которые, по различным причинам, не получали базового лечения системного аутоиммунного заболевания.

Было установлено, что в патогенезе аутоиммунных увеитов происходит активация синтеза интерлейкина ИЛ-17А, способного стимулировать синтез провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β) и считающегося значимым участником развития аутоиммунно-

го реагирования [6, 7, 11], в прямой взаимосвязи с нарастанием концентраций ИЛ-6, цитокина, с подавлением синтеза которого связаны надежды на лечение аутоиммунных заболеваний [6, 9]. Также установлено взаимозависимое с повышением содержания ИЛ-6 нарастание концентраций ИЛ-4, активирующего иммунное реагирование по Т-хелпер-2 опосредованному пути и являющегося значимым участником аутоиммунного реагирования [8]. Представляет несомненный интерес повышение в слезной жидкости обследованных пациентов ИЛ-8, являющегося хемотактантом и активным участником деструктивно-воспалительного повреждения, что, вероятно, позволяет считать его участником нарушения целостности гемато-офтальмологического барьера, приводящего к активации аутоиммунного реагирования.

18.02.2013

Список литературы:

1. Дроздова Е. А. Увеит при ревматических заболеваниях: особенности клиники, диагностика, иммунопатогенез и лечение: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2006. – 41 с.
2. Катаргина Л. А., Старикова А. В., Денисова Е. В. Эффективность применения ремикейда при лечении увеитов, ассоциированных с заболеваниями суставов у детей // Рос. пед. офтальмология. – 2009. – №4. – С. 13–17.
3. Черных В.В., Егорова Е.В., Ермакова О.В., Трунов А.Н., Бетке А.В., Обухова О.О. О возможной роли иммунных нарушений в патогенезе псевдоэкзофтальмического синдрома // Бюл. СО РАМН. – 2009. – №4. – С. 131–135.
4. Черных В. В., Ходжаев Н. С., Тахчиди Е. Х., Горбенко О. М., Шваюк А. П., Обухова О. О., Трунов А. Н. Особенности патогенеза начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы, значимость иммуновоспалительных процессов // Офтальмохирургия. -2011. -№2. -С. 50–53.
5. Barisani-Asenbauer T., Maca S.M., Mejdoubi L., Emminger W., Machold K., Auer H. Uveitis – a rare disease often associated with systemic diseases and infections – asystematic review of 2619 patients // Orphanet Journal of Rare Diseases -2012.-Vol7, №1.P.57.(http://www.ojrd.com/content/7/1/57)
6. Commodaro A. G., Bueno V., Belfort R. Jr., Rizzo L. V. Autoimmune uveitis: the associated proinflammatory molecules and the search for immunoregulation // Autoimmun. Rev. – 2011. – Vol. 10, №4. – P. 205–209.
7. Chen H. T., Wang H., Zhao M., Hou B. Regulation of antigen specific Th17 cells differentiation in experimental autoimmune uveitis // Zhonghua Yan KeZaZhi. -2012. – Vol. 48, №3. – P. 234–240.
8. Horai R., Caspi R. R. Cytokines in autoimmune uveitis // J. Interferon Cytokine Res. – 2011. -Vol. 31, №10. – P. 734–744.
9. Hohki S., Ohguro N., Haruta H., Nakai K., Terabe F., Serada S., Fujimoto M., Nomura S., Kawahata H., Kishimoto T., Naka T. Blockade of interleukin-6 signaling suppresses experimental autoimmune uveoretinitis by the inhibition of inflammatory Th17 responses // Exp. Eye. Res. – 2010. -Vol. 91, №2. -P. 162–170.
10. Kang M. H., Kim M. K., Lee H. J., Lee H. I., Wee W. R., Lee J. H. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases // J. Korean Med. Sci. -2011. – Vol. 26, №7. – P. 938–944.
11. Mohsenin A., Huang J.J. Ocular manifestations of systemic inflammatory diseases // Conn. Med. -2012.-Vol.76, №9.-P.533-544.

Сведения об авторах:

Трунов Александр Николаевич, заместитель директора по научной работе Новосибирского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С. Н. Федорова» Минздрава России, руководитель лаборатории иммунологии ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН, доктор медицинских наук, профессор

Арбеньева Наталья Сергеевна, врач-офтальмолог Новосибирского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С. Н. Федорова» Минздрава России

Горбенко Ольга Михайловна, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН, кандидат биологических наук

Шваюк Аля Петровна, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН, кандидат биологических наук

630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10, тел.: (913) 9100316; факс (383) 3403737,
e-mail: trunov1963@yandex.ru

UDC: 617.7+ 612.017.1:616-056.43

Trunov A.N.^{1,2}, Arbeneva N.S.¹ Gorbenko O.M.², Shvayuk A.P.², Obukhova O.O.²

E-mail: trunov1963@yandex.ru

IMBALANCE CYTOKINES IN THE TEAR FLUID IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE UVEITIS

Study activity the local immunoinflammatory process in patients with autoimmune uveitis. We examined 60 patients with autoimmune uveitis (study group) not receiving basic treatment system autoimmune disease and 20 control patients. In the lacrimal fluid of patients before treatment, by enzyme immunoassay, was conducted determination of IL-17A, IL-8, IL-6, IL-4. Found that in the pathogenesis of uveitis associated with systemic autoimmune diseases, an important role is the development of local immunoinflammatory process, which is manifested in a significant increase in tear fluid of surveyed patients, concentrations of proinflammatory cytokines IL-17A, IL-8, that accompanied by increased concentrations of IL-4, IL-6, which play a significant role in the development of autoimmune response and chronic inflammatory processes in their relationship, which was confirmed data correlation analysis

Key words: autoimmune uveitis, cytokines immunoinflammatory process.

Bibliography:

1. Drozdov E.A. Uveitis in rheumatic diseases: clinical features, diagnosis, immunopathogenesis and treatment: Author. dis.... doctor of medicine. M., 2006. – 41p.
2. Katargina L.A., Starikov A.V., Denisov E. Efficacy of Remicade in the treatment of uveitis associated with diseases of the joints, in children // Rus. ped. Ophthalmology. – 2009. – №4. -P. 13-17.
3. Chernykh V.V., Egorova E.V., Ermakova O.V., Trunov A.N., Bethke A.N., Obukhova O.O. A possible role immune disorders in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome // Bull. RAMS. – 2009. – №4. -P. 131-135.
4. Chernykh V.V., Khodzhaev N.S., Tahchidi E.H., Gorbenko O.M., Shvayuk A.P. Obukhov O.O., Trunov A.N. Pathogenesis initial stage of primary open-angle glaucoma, the importance of immunoinflammatory processes // Ophthalmosurgery. - 2011. – №2. -P. 50-53.
5. Barisani-Asenbauer T., Maca S.M., Mejdoubi L., Emminger W., Machold K., Auer H. Uveitis– a rare disease often associated with systemic diseases and infections– a systematic review of 2619 patients// Orphanet Journal of Rare Diseases -2012.-Vol7, №1.P.57.(<http://www.orphandis.com/content/7/1/57>)
6. Commodaro A. G., Bueno V., Belfort R. Jr., Rizzo L. V. Autoimmune uveitis: the associated proinflammatory molecules and the search for immunoregulation // Autoimmun. Rev.– 2011.– Vol. 10, №4. -P. 205–209.
7. Chen H. T., Wang H., Zhao M., Hou B. Regulation of antigen specific Th17 cells differentiation in experimental autoimmune uveitis // Zhonghua Yan KeZaZhi. -2012.– Vol. 48, №3.– P. 234–240.
8. Horai R., Caspi R. R. Cytokines in autoimmune uveitis // J. Interferon Cytokine Res.– 2011. -Vol. 31, №10. – P. 734–744.
9. Hohki S., Ohguro N., Haruta H., Nakai K., Terabe F., Serada S., Fujimoto M., Nomura S., Kawahata H., Kishimoto T., Naka T. Blockade of interleukin-6 signaling suppresses experimental autoimmune uveoretinitis by the inhibition of inflammatory Th17 responses // Exp. Eye. Res.– 2010. -Vol. 91, №2. -P. 162–170.
10. Kang M. H., Kim M. K., Lee H. J., Lee H. I., Wee W. R., Lee J. H. Interleukin-17 in various ocular surface inflammatory diseases // J. Korean Med. Sci. -2011.– Vol. 26, №7.– P. 938–944.
11. Mohsenin A., Huang J.J. Ocular manifestations of systemic inflammatory diseases// Conn. Med. -2012.-Vol.76, №9.- P.533-544.