Храменко Н.И., Величко Л.Н., Коновалова Н.В., Богданова А.В.
Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины, Одесса, Украина

Khramenko N., Velychko L., Konovalova N., Bogdanova O.
The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odessa, Ukraine

Уровень экспрессии маркеров ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с первичным и рецидивирующим задним увеитом

Level of Expression of Markers ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 and CD95 on Peripheral Blood Lymphocytes in Patients with Primary and Recurrent Posterior Uveitis

Резюме

Идентификация и установление уровня активации биомаркеров при увеитах позволяют расширить знания по патофизиологии данного воспалительного заболевания, его диссеминированию и прогрессированию, а при разработке соответствующего диагностического арсенала предоставят возможность точной таргетной терапии. У пациентов с первичным и рецидивирующим очаговым и диссеминированным хориоретинитом абсолютное и относительное количество экспрессии ICAM-1 (CD54), маркера воспаления, увеличено в сравнении с нормой в 2,8–5,6 раза ($p < 0,05$). Маркер ранней активации CD25, отражающий готовность иммунной системы к участию в воспалительном процессе, был выше нормы в 1,8–2,4 раза ($p < 0,05$). Характерным является то, что выявлена более высокая экспрессия маркера ранней активации лимфоцитов CD25 при первичном очаговом и диссеминированном хориоретините на 24,7–33%, чем при рецидивирующем. Уровень экспрессии CD5, отражающий аутоиммунные характеристики патологического процесса при первичном и рецидивирующих хориоретинитах, по абсолютному и относительному количеству выше нормы в 2,0–3,5 раза ($p < 0,05$). При рецидивирующем хориоретините в период рецидива экспрессия CD5 выше на 24% ($p < 0,05$), чем при ремиссии, что указывает на усиление аутоиммунных процессов при рецидиве. В группах с первичным и рецидивирующим хориоретинитом экспрессия маркера апоптоза CD95 превышала норму в 3,2–4,7 раза ($p < 0,05$) и при диссеминированном хориоретините в период рецидива была выше на 15% ($p < 0,05$) в сравнении с очаговым в период рецидива. Диссеминированный хориоретинит, невзирая на сроки протекания воспалительного процесса, характеризуется более высокой экспрессией (на 15–17%) маркера апоптоза CD95, чем очаговый хориоретинит.

Ключевые слова: задний увеит, маркеры ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 и CD95.

Abstract

Identification and determination of the level of activation of biomarkers in uveitis will expand knowledge on the pathophysiology of this inflammatory disease, its dissemination and progression, and, when developing an appropriate diagnostic arsenal, will provide an opportunity for accurate targeted therapy. The absolute and relative amount of expression of ICAM-1 (CD 54), a marker of inflammation, increased in comparison with the norm – 2.8–5.6 times ($p<0.05$) in patients with primary and recurrent focal and disseminated chorioretinitis. The marker of early activation CD25, reflecting the readiness of the immune system to participate in the inflammatory process, was on 1.8–2.4 times higher than normal ($p<0.05$). It is important that a expression of the marker CD25 was higher on 24,7%–33% in primary focal and disseminated chorioretinitis than in recurrent chorioretinitis. The level of expression of CD5, reflecting the autoimmune characteristics of the pathological process, in primary and recurrent chorioretinitis, was on 2.0–3.5 times higher than in normal ($p<0.05$). In recurrent chorioretinitis, the expression of CD5 is 24% higher ($p<0.05$) during the relapse period than in remission, which indicates an increase in autoimmune processes in relapse. The expression of the marker of apoptosis CD 95 exceeded the norm by 3.2–4.7 times ($p<0.05$) in the groups with primary and recurrent chorioretinitis. In disseminated chorioretinitis during the relapse period it was higher on 15% ($p<0.05$) in comparison with focal chorioretinitis in the period of relapse. Disseminated chorioretinitis is characterized by a higher expression (on 15–17%) of the apoptosis marker CD 95 than focal chorioretinitis regardless of the duration of the inflammatory process.

Keywords: posterior uveitis, markers ICAM-1 (CD 54), CD 25, CD 5 and CD 95.

■ ВВЕДЕНИЕ

Внутриглазные воспаления (инфекционные или неинфекционные) составляют 5–20% случаев слепоты в развитых странах и 25% в развивающихся [1, 2]. Увеит – гетерогенная группа заболеваний, диагностируемых на основании определенных клинических характеристик, может сопровождаться системной патологией. Точный патогенез увеита до сих пор неясен, но общепризнано, что сочетание определенных генетических или эпигенетических факторов с дисбалансом в регуляции иммунного ответа приводит к развитию этого заболевания [3]. Распространенность переднего увеита, панuveита, заднего увеита и среднего увеита, по данным нескольких исследований, составляет 24,5–52,3%, 11,8–52,9%, 7,1–46,0% и 6,3–19,3% соответственно [4].

Задний увеит – это воспаление заднего увеального тракта (сетчатки и сосудистой оболочки). Согласно классификации Международной исследовательской группы по увеиту и рабочей группы стандартизации номенклатуры увеитов, задний увеит включает очаговый, многоочаговый или диссеминированный хориоидит, хориоретинит, ретинохориоидит, ретинит и нейроретинит [5, 6]. Этиология заднего увеита может быть инфекционной (бактериальной, вирусной, грибковой и паразитарной), неинфекционной (аутоиммунной или связанной с системным заболеванием), а также подобные клинические признаки могут быть проявлением маскардадного синдрома [7].

Увеит характеризуется воспалительным инфильтратом глаза смешанного генеза, содержащим элементы как адаптивного, так и

врожденного иммунитета. Врожденный ответ иммунной системы может активироваться в течение нескольких минут после вторжения бактерий или вирусов в отличие от адаптивного иммунного ответа. При заднем увеите в результате воспаления обычно происходит повреждение фоторецепторных клеток и клеток пигментного эпителия, что приводит к нарушению зрения [8]. Знания, полученные на моделях увеита, в частности о том, как предотвратить повреждение тканей при воспалении, пролили свет на ключевую роль многих биомаркеров и факторов-мишеней, способность макрофагов реагировать на воздействие окружающей среды, а цитокинов и рецепторов – обеспечивать адаптивность в борьбе с воспалением и в восстановлении структуры и функции. Наиболее успешным сегодня является изучение TNF- α . Регулирование реакции макрофагов является основным эффектом анти-TNF- α агентов [9]. Идентификация этих биомаркеров открыла новые возможности для дополнительной точности диагностики, целенаправленного лечения и избегания ненужных лекарств, тем самым уменьшив системные побочные эффекты и улучшив качество жизни. Будущие направления лечения включают лечение ингибиторами IL-6, IL-23 и mTOR, а также терапию, направленную на комплемент [10].

Известно, что клеточный иммунитет – главный механизм, участвующий в разрешении воспалительного процесса, вызванного *Toxoplasma Gondii*. Иммунный ответ обусловлен активацией макрофагов, естественных киллеров NK- и T-клеток с высвобождением цитокинов, таких как IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-27 и TNF- α [11]. Исследование цитокинов и анализ хемокинов при увеите, связанном с туберкулезом, показало, что задействованы аутоиммунные механизмы [12]. При вирусной инфекции, когда инфицированные клетки увеальной ткани и ткани роговицы имеют на своей поверхности вируспецифические антигены, клеточно-опосредованный иммунитет имеет решающее значение. Различные иммунорегуляторные цитокины (IL-6, IL-10 и IFN- γ) были обнаружены в образцах глазных жидкостей пациентов с вирусным увеитом. Медиаторы воспаления при вирусном увеите недостаточно изучены. При грибковом кератouveите экспрессируются IL-1 β , IL-6, IL-8 и IFN- γ . Регуляция CD4 клеток посредством эффекторных цитокинов (IL-12, IL-6, IL-4 и IL-1 β) во время инвазивного аспергиллеза в будущем станет таргетной иммунной терапией. Интерлейкины, цитокины и белковые маркеры могут представлять собой индикаторы определенного воспалительного механизма, активности заболевания или восприимчивости к определенному способу лечения [13]. Например, молекулы адгезии ICAM-1 являются важнейшими регуляторами клеточной функции, целостности тканей и гомеостаза. Эти адгезивные рецепторы не только опосредуют межклеточные взаимодействия, но и через ассоциацию с цитоскелетом клетки и различными белками адаптации запускают активацию внутриклеточных процессов в ответ на специфические и локальные сигналы [14]. Выявлена повышенная экспрессия белка ICAM-1 в конъюнктивных эпителиальных клетках и клетках слезной железы на моделях системного аутоиммунного заболевания [15].

Новые методы лечения с использованием биопрепаратов открыли двери для точной таргетной терапии посредством блокировки определенных цитокинов и/или их рецепторов. Это обеспечивает основу для

разработки биомаркеров для будущих диагностических тестов при воспалительных состояниях глаз [13]. Идентификация биомаркеров таких заболеваний является важным подспорьем в их диагностическом арсенале. Они служат будущими диагностическими и фармацевтическими мишенями [16].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить абсолютный и относительный уровень маркеров ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с первичным и рецидивирующим задним увеитом (очаговым и диссеминированным хориоретинитом).

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование и лечение на базе отделения воспалительной патологии глаз получил 61 пациент, они составили 4 группы больных: 17 пациентов с первичным хориоретинитом (срок заболевания от 3 до 90 дней) – очаговым и диссеминированным (группа 1п и 2п – 7 и 10 человек соответственно), 28 пациентов с рецидивирующим очаговым хориоретинитом (1-я группа – период ремиссии, 2-я группа – период рецидива) и 16 – с диссеминированным хориоретинитом (3-я группа – период ремиссии и 4-я группа – период рецидива). Контрольную группу (5-я группа) составили 27 соматически и офтальмологически здоровых волонтеров. Возраст пациентов в среднем составил $39,1 \pm 0,8$ года. Всем пациентам проводились визометрия, измерение ВГД, офтальмоскопия, биомикроскопия, периметрия, исследование электрической чувствительности и лабильности зрительного нерва по фосфену.

Определяли абсолютный и относительный уровень экспрессии маркера межклеточных молекул адгезии ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови. Забор крови проводили из локтевой вены с помощью одноразовой вакуумной системы. Исследовали молекулярные маркеры активации лимфоцитов ICAM-1 (CD54) с помощью моноклональных антител крови иммуноцитохимическим методом [17]. Статистический анализ проводился с помощью прикладной программы STATISTICA 8.0 (StatSoftInc). При демонстрации анализа данных представлены средние значения (M), стандартное отклонение (SD), медиана (Me), нижний и верхний квартиль. Для уточнения различий в группах использовались критерии Стьюдента и Манна – Уитни.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящее время ICAM-1 (CD54) рассматривается как функциональный биомаркер воспаления. ICAM-1 взаимодействует с интегринами (LFA-1 и MAC-1) на поверхности лейкоцитов для их трансэндотелиальной миграции в места воспаления и осуществления функции в качестве костимуляторных молекул для активации Т-клеток. ICAM-1 экспрессируется на поверхности клетки и активируется в ответ на различные медиаторы воспаления, включая провоспалительные цитокины, гормоны, клеточные стрессы и вирусную инфекцию [18]. Анализ уровня экспрессии маркеров ICAM-1 (CD54) на лимфоцитах

Таблица 1
Абсолютный и относительный (%) уровень маркеров ICAM-1 (CD54) и CD25 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с рецидивирующим очаговым и диссеминированным хориоретинитом

Table 1
Absolute and relative (%) levels of ICAM-1 (CD54) and CD25 markers on lymphocytes of peripheral blood in patients with recurrent focal and disseminated chorioretinitis

Нозологическая форма	Период заболевания / количество пациентов	№ группы	CD54, кл/мл	CD54, %	CD25, кл/мл	CD25, %
			Me (нижний и верхний квартили)	M±SD	Me (нижний и верхний квартили)	M±SD
Очаговый хориоретинит	Ремиссия / N=12	1	467 (349–530)	26,5±5,0	329 (304–342)	19,1±1,3
	Рецидив / N=16	2	467 (386–637)	27,4±2,9	299 (262–440)	20,6±5,5
Диссеминированный хориоретинит	Ремиссия / N=9	3	445 (324–500)	27,4±5,8	329 (324–366)	19,1±1,0
	Рецидив / N=7	4	327 (305–349)	24,5±2,8	238 (212–366)	15,0±2,8
Контрольная группа	N=27	5	114 (87–168) p ₁₋₅ =0,000001 p ₂₋₅ =0,000001 p ₃₋₅ =0,000003 p ₄₋₅ =0,002	8,5±2,0 p ₁₋₅ =0,000001 p ₂₋₅ =0,000001 p ₃₋₅ =0,00002 p ₄₋₅ =0,001	136 (106–211) p ₁₋₅ =0,0002 p ₂₋₅ =0,0004 p ₃₋₅ =0,001	10,7±2,6 p ₁₋₄ =0,02 p ₃₋₄ =0,02 p ₁₋₅ =0,00001 p ₂₋₅ =0,00002 p ₃₋₅ =0,00001 p ₄₋₅ =0,04

Примечание: p – уровень значимости различий между группами.

периферической крови у пациентов с рецидивирующим очаговым и диссеминированным хориоретинитом показал, что их абсолютное количество увеличено в сравнении с нормой в 2,8–4,1 раза (p<0,05) и относительное – в 2,9–3,2 раза (p<0,05) соответственно. Значимого различия по нозологической форме и периоду заболевания (ремиссия и рецидив) не выявлено (табл. 1).

При первичном процессе определяется такая же тенденция – значимо увеличены абсолютные показатели CD54 – в 3,7–5,6 раза (p<0,05), относительные – в 2,7–3,2 раза (p<0,05). Значимого различия по нозологической форме не выявлено (табл. 2).

Маркер ранней активации, белок из группы дифференцировочных антигенов лейкоцитов CD25, является субъединицей α-рецептора интерлейкина-2 (медиатор воспаления). CD25 отражает способность лимфоцитов к пролиферации и дифференцировке, т. е. готовность иммунной системы. Количество таких клеток возрастает при гиперактивности иммунитета, а уменьшается при недостаточности клеточного звена иммунитета. В нашей группе наблюдения абсолютное количество маркера CD25 было выше нормы в 1,8–2,4 раза (p<0,05), а относительное количество – в 1,5–2,0 раза (p<0,05) тоже независимо от нозологической формы и периода заболевания (ремиссия и рецидив), где существенных различий не выявлено (табл. 1).

При первичном воспалительном процессе при очаговом хориоретините количество маркера CD25 было наиболее высоким (табл. 2) как

по абсолютным ($Me=545$ кл/мл), так и по относительным ($23,8\pm2,5\%$) значениям. Эти показатели выше на 42% ($p<0,05$) и на 16% ($p<0,05$), чем в группе с диссеминированным хориоретинитом. Более низкие цифры маркера ранней активации лимфоцитов, вероятно, объясняются тем, что пациенты не сразу отметили первичный очаг и обратились к специалисту уже с появлением повторных, т. е. на более поздних сроках. Следует отметить, что в группе с очаговым хориоретинитом этот показатель был выше нормы в 4 раза ($p<0,05$), в группе с диссеминированным хориоретинитом – в 2,7 раза ($p<0,05$) (табл. 2).

При сравнении уровня экспрессии маркера ранней активации лимфоцитов CD25 при первичном и рецидивирующем хориоретините в период рецидива были отмечены существенные различия. Так, при первичном очаговом процессе данный показатель был выше на 24,7% ($p=0,05$), чем при рецидивирующем очаговом, а при первичном диссеминированном – на 33% ($p=0,006$) (табл. 1, 2). Таким образом, выявлена более высокая экспрессия маркера ранней активации лимфоцитов при первичном очаговом и диссеминированном хориоретините, т. е. гиперэкспрессия этого маркера при первичном воспалении.

CD5 представляет собой фенотипический маркер, молекулы которого экспрессированы на Т- или В-лимфоцитах, принимают непосредственное участие в модулировании сигнала, проводимого через антигенспецифический рецепторный комплекс (TCR и BCR). В клинической практике увеличение его экспрессии характерно для аутоиммунных заболеваний, аутоиммунных поражений при инфекционных заболеваниях (хламидиоз, синдром Рейтера, бруцеллез и т. д.); лимфопролиферативных процессах. Уровень экспрессии CD5 при рецидивирующих хориоретинитах по абсолютному количеству выше нормы в 2,5–3,5 раза ($p<0,05$), существенно не различается по нозологии и периодам

Таблица 2
Абсолютный и относительный (%) уровень маркеров ICAM-1 (CD54) и CD25 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с первичным очаговым и диссеминированным хориоретинитом

Table 2
Absolute and relative (%) levels of ICAM-1 (CD54) and CD25 markers on lymphocytes of peripheral blood in patients with primary focal and disseminated chorioretinitis

Нозологическая форма	Количество пациентов	№ группы	CD54, кл/мл	CD54, %	CD25, кл/мл	CD25, %
			Me (нижний и верхний квартили)	M $\pm$ SD	Me (нижний и верхний квартили)	M $\pm$ SD
Очаговый хориоретинит	N=10	1п	641 (391–803)	26,8 $\pm$ 5,4	545 (423–688)	23,8 $\pm$ 2,0
Диссеминированный хориоретинит	N=7	2п	420 (330–500)	23,0 $\pm$ 4,8 $p_{1п-2п}=0,07$	366 (354–376) $p_{1п-2п}<0,05$	20,0 $\pm$ 1,1 $p_{1п-2п}=0,001$
Контрольная группа (здоровые)	N=27	5	114 (87–168) $p_{1п-5}=0,0001$ $p_{2п-5}=0,0001$	8,5 $\pm$ 2,0 $p_{1п-5}=0,00001$ $p_{2п-5}=0,000001$	136 (106–211) $p_{1п-5}=0,0001$ $p_{2п-5}=0,00001$	10,7 $\pm$ 2,6 $p_{1п-5}=0,00001$ $p_{2п-5}=0,000001$

Примечание: p – уровень значимости различий между группами.

заболевания. По относительному количеству экспрессии CD5 выше нормы в 2,0–2,4 раза ($p<0,05$). Следует отметить, что уровень относительного количества при очаговом хориоретините CD5 в период рецидива выше на 24% ($p<0,05$), чем при ремиссии (табл. 3).

При первичном процессе этот показатель в 3,5–4,8 раза также выше нормы ($p<0,05$). Различий в значениях экспрессии CD5 при первичном и рецидивирующем процессе не выявлено (табл. 4).

Важным механизмом поддержания корректного числа клеток в организме является апоптоз, или запрограммированная клеточная смерть. В иммунной системе он является одним из основных регуляторов численности популяций клеток. Именно этот процесс ограничивает экспансию активированных клонов, препятствуя развитию воспаления и аутоиммунных реакций. CD95 – маркер апоптоза клетки. В группах с рецидивирующим хориоретинитом этот показатель превосходил норму по абсолютным значениям в 3,2–4,0 раза ($p<0,05$) (табл. 3), а в группах с первичным процессом – в 4,3–4,7 раза ($p<0,05$) (табл. 4).

Следует отметить, что в группе с рецидивирующим хориоретинитом имелась значимая тенденция к более высоким значениям экспрессии CD95 при диссеминированном хориоретините в период рецидива в сравнении с очаговым в период рецидива. Так, при рецидивирующем диссеминированном хориоретините CD95 выше на 15% ($p<0,05$), чем при очаговом. При первичном остром процессе в группе с диссеминированным хориоретинитом экспрессия CD95

Таблица 3
Абсолютный и относительный (%) уровни экспрессии маркеров CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с рецидивирующим очаговым и диссеминированным хориоретинитом

Table 3
Absolute and relative (%) levels of CD 5 and CD 95 markers on lymphocytes of peripheral blood in patients with recurrent focal and disseminated chorioretinitis

Нозологическая форма	Период заболевания / количество пациентов	№ группы	CD5, кл/мл	CD5, %	CD95, кл/мл	CD95, %
			Me (нижний и верхний квартили)	M±SD	Me (нижний и верхний квартили)	M±SD
Очаговый хориоретинит	Ремиссия / N=12	1	356 (282–490)	20,3±5,0	432 (380–564)	23,3±5,9
	Рецидив / N=16	2	486 (395–677)	25,1±3,1	495 (374–556)	24,2±3,4
Диссеминированный хориоретинит	Ремиссия / N=9	3	402 (275–494)	23,4±4,1	380 (226–603)	23,0±3,6
	Рецидив / N=7	4	397 (327–402)	24,0±1,7	445 (271–445)	26,4±2,1
Контрольная группа	N=27	5	140 (114–176)	10,3±1,9	120 (88–227)	9,5±2,8
p – уровень значимости различий между группами			p ₁₋₅ =0,00001 p ₂₋₅ =0,0001 p ₃₋₅ =0,0001 p ₄₋₅ =0,02	p ₁₋₂ =0,01 p ₁₋₃ =0,07 p ₁₋₅ =0,00002 p ₂₋₅ =0,00001 p ₃₋₅ =0,00003 p ₄₋₅ =0,01	p ₁₋₅ =0,0006 p ₂₋₅ =0,0002 p ₃₋₅ =0,0008 p ₄₋₅ =0,002	p ₃₋₄ =0,04 p ₁₋₅ =0,0006 p ₂₋₅ =0,0002 p ₃₋₅ =0,0003 p ₄₋₅ =0,001

Таблица 4

Абсолютный и относительный (%) уровни экспрессии маркеров CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с первичным очаговым и диссеминированным хориоретинитом

Table 4
Absolute and relative (%) levels of CD 5 and CD 95 markers on lymphocytes of peripheral blood in patients with primary focal and disseminated chorioretinitis

Нозологическая форма	Количество пациентов	№ группы	CD5, кл/мл	CD5, %	CD95, кл/мл	CD95, %
			Me (нижний и верхний квартили)	M±SD	Me (нижний и верхний квартили)	M±SD
Очаговый хориоретинит	N=10	1п	590 (431–784)	25,1±3,7	562 (462–660)	24,0±3,2
Диссеминированный хориоретинит	N=7	2п	402 (355–416)	22,4±3,1 P _{1п-2п} =0,06	512 (480–601)	28,0±5,6 P _{1п-2п} =0,04
Контрольная группа	N=27	5	140 (114–176) P _{1п-5} =0,00001 P _{2п-5} =0,00001	10,3±1,9 P _{1п-5} =0,00001 P _{2п-5} =0,00001	120 (88–227) P _{1п-5} =0,00002 P _{2п-5} =0,00001	9,5±2,8 P _{1п-5} =0,00001 P _{2п-5} =0,00001

Примечание: p – уровень значимости различий между группами.

значимо выше на 17% ($p<0,05$), чем при первичном очаговом (табл. 3, 4). Таким образом, диссеминированный хориоретинит, невзирая на сроки протекания воспалительного процесса, характеризуется более высокой экспрессией (на 15–17%) маркера апоптоза CD95, чем очаговый хориоретинит.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время знания по патофизиологии такого воспалительного процесса, как увеиты, по оценке современных специалистов, остаются на низком уровне [19]. Известно, что молекула межклеточной адгезии-1 (ICAM-1, CD54) представляет собой индуцируемую цитокинами Ig-подобную молекулу клеточной адгезии, экспрессируемую несколькими типами клеток, включая лейкоциты и эндотелиальные клетки в местах воспаления. Экспрессия может быть индуцирована клеточно-специфическим образом несколькими цитокинами, например фактором TNF- α , интерлейкином-1 и интерфероном- γ , и ингибироваться глюкокортикоидами. ICAM-1 играет роль в воспалительных процессах и в системе защиты хозяина, опосредованной Т-клетками. ICAM-1 превратился в главный регулятор многих важных клеточных функций как в начале, так и при разрешении патологических состояний. Роль ICAM-1 в стимулировании воспалительных реакций хорошо известна [20].

В проведенных ранее исследованиях мы рассмотрели диагностические возможности при определении такого биомаркера воспаления, как ICAM-1, при кератитах вирусной этиологии. Его экспрессия на лимфоцитах в периферической крови у больных стромальным герпетическим кератитом по абсолютным и относительным значениям превышала норму в 4,0–3,1 раза соответственно. У пациентов с первичным процессом и в период рецидива хронического ГК экспрессия

маркера ICAM-1 была на 16% выше, чем в спокойный период хронического течения ГК [21]. Ряд исследователей обнаружили статистически значимое повышение уровня ICAM-1 в сыворотке крови пациентов с передним увеитом (HLA-B27 негативный), со средним увеитом и у пациентов с саркоидозом [22, 23]. В нашем исследовании у пациентов с первичным и рецидивирующим очаговым и диссеминированным хориоретинитом абсолютное и относительное количество ICAM-1 увеличено в сравнении с нормой в 2,8–5,6 раза ($p < 0,05$). Значимого различия по количеству очагов, характеру течения (первичный или рецидивирующий) и периоду заболевания (ремиссия и рецидив) не выявлено. Это указывает на тяжесть и хронизацию воспаления при поражении заднего полюса глаза. Активация эндотелиальных клеток и взаимодействие лейкоцитов с эндотелиальными клетками являются основными факторами воспалительных процессов, которые связаны с усилением регуляции цитокинов и молекул адгезии. ICAM-1 имеет решающее значение в этом ответе, потому что он опосредует адгезию и трансмиграцию лейкоцитов в эндотелий сосудов. После воспалительных стимулов экспрессия ICAM-1 усиливается. Эта повышающая регуляция ICAM-1 приводит к усилению адгезии и захвату лейкоцитов. Эндотелий сосудов способствует воспалительным процессам и поражается ими. Различные цитокины обладают способностью активировать эндотелий сосудов и содействуют экспрессии молекул адгезии. Вследствие этой активации воспалительный процесс ускоряется и запускается каскад воспалительных реакций, в которых участвуют моноциты, макрофаги, Т-лимфоциты и гладкомышечные клетки сосудов. Молекулы адгезии участвуют в начальных этапах воспаления, способствуя межклеточной адгезии и процессам передачи сигналов клетками. Эти маркеры могут быть неспецифическими маркерами васкулита сетчатки, а скорее, маркерами заболеваний с поражением сосудов [24]. Гистологические исследования показали, что молекулы мембранной адгезии ICAM-1, E-селектин и VCAM-1 в большом количестве присутствовали в ткани сетчатки у пациентов с болезнью Бехчета, особенно на эндотелиальных клетках сосудов [25]. Многочисленные исследования *in vivo* и *in vitro* определили клетку пигментного эпителия сетчатки (RPE) как идеальную мишень для инфекционных агентов, таких как цитомегаловирус, *Toxoplasma gondii* и коронавирус. Кроме того, эта клетка является богатым источником цитокинов, хемокинов и факторов роста, которые могут способствовать или ограничивать патологические процессы. Исследования также показали, что клетки играют ключевую роль в иммунной системе [26]. Хорошо известно, что сами клетки пигментного эпителия сетчатки (RPE) продуцируют ICAM-1 [27]. Клетка пигментного эпителия сетчатки является мощной регуляторной клеткой, которая способствует нормальным физиологическим процессам и играет решающую роль в различных заболеваниях сетчатки. Предварительная обработка клеток пигментного эпителия сетчатки IFN- β приводила к ингибированию продукции ICAM-1 [26]. Таким образом, эти данные указывают на вовлечение в иммунное звено патогенеза задних увеитов не только ретинальной и хориоидальной систем кровообращения глаза, но и структур сетчатки.

Маркер ранней активации CD25 отражает готовность иммунной системы к участию в воспалительном процессе. В нашем исследовании абсолютное и относительное количество маркера CD25 было выше нормы в 1,8–2,4 раза ($p < 0,05$) также независимо от нозологической формы и периода заболевания (ремиссия и рецидив), где существенных различий не выявлено. Важным является то, что при первичном очаговом процессе данный показатель был выше на 24,7% ($p = 0,05$), чем при рецидивирующем очаговом, а при первичном диссеминированном – на 33% ($p = 0,006$). Таким образом, выявлена более высокая экспрессия маркера ранней активации лимфоцитов при первичном очаговом и диссеминированном хориоретините, т. е. первичный процесс характеризуется усилением экспрессии маркера ранней активации CD25.

В развитии заболевания важную роль играет аутоиммунный процесс. Региональные иммунорегуляторные механизмы гарантируют, что наиболее эффективная иммунная защита пропорциональна сохранению уникальных функций тканей, т. е. эффективная защита должна сохранить ткани органа [28]. Уровень экспрессии CD5, отражающий аутоиммунные характеристики патологического процесса при первичном и рецидивирующих хориоретинитах, по абсолютному и относительному количеству выше нормы в 2,0–3,5 раза ($p < 0,05$), существенно не различается по нозологии. При рецидивирующем хориоретините в период рецидива экспрессия CD5 выше на 24% ($p < 0,05$), чем при ремиссии, что указывает на усиление аутоиммунных процессов.

Образование, созревание и отбор лимфоцитов представляют собой строго контролируемые иммунные процессы, которые обычно предотвращают аутоиммунизацию. Посредством апоптоза происходит клеточный отбор лимфоцитов для удаления потенциально аутореактивных клеток [29]. В группах с рецидивирующим хориоретинитом экспрессия CD95 превышала норму по абсолютным значениям в 3,2–4,0 раза ($p < 0,05$) и при диссеминированном хориоретините в период рецидива была выше на 15% ($p < 0,05$) в сравнении с очаговым. В группах с первичным процессом экспрессия CD95 была выше нормы в 4,3–4,7 раза ($p < 0,05$). В процессе анализа выяснилось, что диссеминированный хориоретинит, невзирая на сроки протекания воспалительного процесса, характеризуется более высокой экспрессией (на 15–17%) маркера апоптоза CD95, чем очаговый хориоретинит. Гиперэкспрессия CD95 может быть одним из механизмов недостаточной иммунорегуляции цитотоксичности, приводящей к рецидивированию воспаления, что свидетельствует о нарушении соотношения между активацией и элиминацией иммунокомпетентных и провоспалительных клеток. Изучение процессов апоптоза выступает важной частью изучения иммунологических процессов, приводящих к прогрессированию воспалительного процесса. Оценка уровня экспрессии CD95 (маркера активации и апоптоза иммунных клеток) может быть использована в качестве прогностического критерия развития диссеминированной формы увеита. Диссеминация воспалительного процесса глаза объясняет актуальность данного исследования и возникающую необходимость углубленного изучения патогенетических механизмов воспаления.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение уровня экспрессии маркеров ICAM-1 (CD54), CD25, CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови у пациентов с первичным и рецидивирующим задним увеитом дополнит знания по патофизиологии увеитов, что предоставит возможность выявить дисбаланс иммунорегуляторных механизмов, прогнозировать прогрессирование воспалительного процесса, оптимизировать диагностическую и лечебную тактику.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста, редактирование – Храменко Н.И.; концепция, дизайн исследования, сбор материала, редактирование – Величко Л.Н., Коновалова Н.В.; концепция, дизайн исследования и сбор материала – Богданова А.В.

Authors' contribution: concept and design of the study, collection of material, processing, text writing, editing – Khramenko N.; concept, research design, collection of material, editing – Velychko L., Konovalova N., concept, research design and collection of material – Bogdanova A.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gritz D.C., Wong I.G. (2004) Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; The Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology*, vol. 111, pp. 491–500. doi:10.1016/j.ophtha.2003.06.014
2. Rathinam S.R., Namperumalsamy P. (2007) Global variation and pattern changes in epidemiology of uveitis. *Indian J Ophthalmol*, vol. 55, pp. 173–83. doi:10.4103/0301-4738.31936
3. Hou S., Li N., Liao X., Kijlstra A., Yang P. (2020) Uveitis genetics. *Exp Eye Res.*, vol. 190:107853. doi: 10.1016/j.exer.2019.107853
4. Lee J.H., Agarwal A., Mahendradas P., Lee C.S., Gupta V., Pavesio C.E., Agrawal R. (2017) Viral posterior uveitis. *Surv Ophthalmol.*, vol. 62, no 4, pp. 404–445. doi: 10.1016/j.survophthal.2016.12.008
5. Bloch-Michel E., Nussenblatt R.B. (1987) International uveitis study group recommendations for the evaluation of intraocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol.*, vol. 103, no 2, pp. 234–235.
6. Jabs D.A., Nussenblatt R.B., Rosenbaum J.T. (2005) Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.*, vol. 140, no 3, pp. 509–516.
7. Deschenes J., Murray P.I., Rao N.A., Nussenblatt R.B. (2008) International Uveitis Study Group. International Uveitis Study Group (IUSG): clinical classification of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*, vol. 16, no 1, pp. 1–2. doi:10.1080/09273940801899822
8. Perez V.L., Caspi R.R. (2015) Immune mechanisms in inflammatory and degenerative eye disease. *Trends Immunol.*, vol. 36, no 6, pp. 354–363. doi:10.1016/j.it.2015.04.003
9. Dick A.D., Forrester J.V., Liversidge J., Cope A.P. (2004) The role of tumour necrosis factor (TNF-alpha) in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). *Prog Retin Eye Res*, vol. 23, no 6, pp. 617–637. doi: 10.1016/j.preteyeres.2004.06.005
10. Mackensen F., Jakob E., Springer C., Dobner B.C., Wiehler U., Weimer P., Rohrschneider K., Fiehn C., Max R., Storch-Hagenlocher B., Becker M.D. (2013) Interferon versus methotrexate in intermediate uveitis with macular edema: results of a randomized controlled clinical trial. *Am J Ophthalmol*, vol. 156, no 3, pp. 478–486. doi:10.1016/j.ajo.2013.05.002
11. Gaddi P.J., Yap G.S. (2007) Cytokine regulation of immunopathology in toxoplasmosis. *Immunol Cell Biol*, vol. 85, no 2, pp. 155–159. doi:10.1038/sj.icb.7100038
12. Ang M., Cheung G., Vania M., Chen J., Yang H., Li J., Chee S.P. (2012) Aqueous cytokine and chemokine analysis in uveitis associated with tuberculosis. *Mol Vis*, vol. 18, pp. 565–573.
13. Balamurugan S., Das D., Hasanreisoglu M., Toy B.C., Akhter M., Anuradha V.K., Anthony E., Gurnani B., Kaur K. (2020) Interleukins and cytokine biomarkers in uveitis. *Indian J Ophthalmol*, vol. 68, no 9, pp. 1750–1763. doi:10.4103/ijo.IJO_564_20
14. Bui T.M., Wiesolek H.L., Sumagin R. (2020) ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J Leukoc Biol*, vol. 108, no 3, pp. 787–799. doi: 10.1002/JLB.2MR0220-549R
15. Pflugfelder S.C., Stern M., Zhang S., Shojaei A. (2017) LFA-1/ICAM-1 Interaction as a Therapeutic Target in Dry Eye Disease. *J Ocul Pharmacol Ther.*, vol. 33, no 1, pp. 5–12. doi: 10.1089/jop.2016.0105
16. Bansal R., Gupta A. (2020) Protein Biomarkers in Uveitis. *Front Immunol*, vol. 3, no 11, 610428. doi:10.3389/fimmu.2020.610428

17. Gluzman D.F., Sklyarenko L.M., Nadgornaya V.A., Kryachok I.A. (2003) *Diagnostic immunocytochemistry of tumors*. Kiev: Morion. (in Russian)
18. Roebuck K.A., Finnegan A. (1999) Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol*, vol. 66, no 6, pp. 876–888.
19. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT04354909>.
20. Bui T.M., Wiesolek H.L., Sumagin R. (2020) ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J Leukoc Biol*, vol. 108, no 3, pp. 787–799. doi: 10.1002/JLB.2MR0220-549R
21. Khramenko N.I., Gaydamaka T.B., Drozhzhina G.I., Velichko L.N., Bogdanova A.V. (2020) Features of the expression of a marker of intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1) on lymphocytes in the blood of patients with stromal herpetic keratitis at different periods of the disease. *Ophthalmol. zhurn.*, no 3, pp. 23–28. doi: 10.31288/oftalmolzh202032328
22. Arock-Mettinger E., Steurer-Georgiew L., Steurer M., Huber-Spitzy V., Hoelzl E., Grabner G., Kuchar A. (1992) Circulating ICAM-1 levels in serum of uveitis patients. *Curr Eye Res*, vol. 11, pp. 161–166. doi:10.3109/02713689208999527
23. Van de Stolpe A., Van der Saag P.T. (1996) Intercellular adhesion molecule-1. *J Mol Med (Berl)*, vol. 74, no 1, pp. 13–33. doi:10.1007/BF00202069
24. Lee M.T., Hooper L.C., Kump L., Hayashi K., Nussenblatt R., Hooks J.J., Detrick B. (2007) Interferon-beta and adhesion molecules (E-selectin and s-intracellular adhesion molecule-1) are detected in sera from patients with retinal vasculitis and are induced in retinal vascular endothelial cells by Toll-like receptor 3 signalling. *Clin Exp Immunol*, vol. 147, no 1, pp. 71–80. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03253
25. Saglam K., Yilmaz M.I., Saglam A., Ulgey M., Bulucu F., Baykal Y. (2002) Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with Behçet's disease *Rheumatol Int.*, vol. 21, no 4, pp. 146–148.
26. Hooks J.J., Nagineni C.N., Hooper L.C., Hayashi K., Detrick B. (2008) IFN-beta provides immuno-protection in the retina by inhibiting ICAM-1 and CXCL9 in retinal pigment epithelial cells. *J Immunol*, Mar 15, vol. 180, no 6, pp. 3789–3796. doi:10.4049/jimmunol.180.6.3789
27. Nagineni C.N., Kutty R.K., Detrick B., Hooks J.J. (1996) Inflammatory cytokines induce intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) mRNA synthesis and protein secretion by human retinal pigment epithelial cell cultures. *Cytokine*, vol. 8, no 8, pp. 622–630. doi: 10.1006/cyto.1996.0083
28. Taylor A.W. (2002–2003) Neuroimmunomodulation and immune privilege: the role of neuropeptides in ocular immunosuppression. *Neuroimmunomodulation*, vol. 10, no 4, pp. 189–198. doi: 10.1159/000068325
29. Kühtreiber W.M., Hayashi T., Dale E.A., Faustman D.L. (2003) Central role of defective apoptosis in autoimmunity. *J Mol Endocrinol*, vol. 31, no 3, pp. 373–399. doi: 10.1677/jme.0.0310373

Подана/Submitted: 18.06.2021

Принята/Accepted: 30.11.2021

Контакты/Contacts: khramenkon@gmail.com