

Сравнительный анализ экспрессии цитокинов в крови и внутриглазных жидкостях при прогрессирующей ретинопатии недоношенных и других офтальмопатологиях

Л.М. Балашова^{1,3}, Ю.Д. Кузнецова^{2,3}, С.В. Лесовой^{2,3}, Е.А. Богомолова¹, С.Н. Быковская^{1,3}, А.В. Бахарев^{3,4}, Е.П. Кантаржи^{1,3}, Ж.М. Салмаси¹

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

² Российская детская клиническая больница — филиал Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва

³ Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Москва

⁴ Городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова, Москва

Comparative analysis of cytokine expression in blood and intraocular fluids in progressive retinopathy of prematurity and other ophthalmic pathologies

L.M. Balashova^{1,3}, Yu.D. Kuznetsova^{2,3}, S.V. Lesovoy^{2,3}, E.A. Bogomolova¹, S.N. Bykovskaya^{1,3}, A.V. Bakharev^{3,4}, E.P. Kantardgi^{1,3}, J.M. Salmasi¹

¹ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

² Russian Children's Clinical Hospital – branch of the Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

³ International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia

⁴ City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Аннотация

Пролиферативная ретинопатия недоношенных (РН) представляет собой особо социально значимое тяжёлое вазопротрофическое заболевание, этиопатогенез которого изучается до настоящего времени. Зарубежные и отечественные исследования последних лет фокусируются на таком звене патогенеза РН, как дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов. Целью настоящего объединённого исследования является проведение сравнительного анализа количественной экспрессии широкого цитокинового спектра в крови и внутриглазных жидкостях пациентов с прогрессирующей РН, катарактой, глаукомой, пролиферативной диабетической витреоретинопатией (ПДР) и увеитами для выявления общих и специфических паттернов, ассоциированных с пролиферативными и воспалительными процессами. Прогрессирующие пролиферативные стадии РН сопровождаются выраженными изменениями в системе цитокинов на уровне системной (кровь) и локальной (СТ) регуляции. Наиболее высокими уровнями экспрессии генов цитокинов отличаются воспалительные процессы (увеиты), а также активные витреоретинальные пролиферативные заболевания (РН, ПДР). Врождённая катаракта и глаукома отличаются минимальной цитокиновой активностью на системном и локальном уровнях.

Summary

Proliferative retinopathy of prematurity (ROP) is a particularly significant, severe vasoproliferative disease, the etiopathogenesis of which is still being studied. Recent international and domestic research has focused on the imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines as a component of ROP pathogenesis. The aim of this combined study is to conduct a comparative analysis of the quantitative expression of a broad spectrum of cytokines in the blood and intraocular fluids of patients with progressive ROP, cataracts, glaucoma, proliferative diabetic vitreoretinopathy (PDR), and uveitis to identify common and specific patterns associated with proliferative and inflammatory processes. Progressive proliferative stages of ROP are accompanied by significant changes in the cytokine system at the systemic (blood) and local (CT) levels of regulation. The highest levels of cytokine gene expression are found in inflammatory conditions (uveitis), as well as active vitreoretinal proliferative diseases (ROP, PDR). Congenital cataracts and glaucoma are characterized by minimal cytokine activity at the systemic and local levels.

Ключевые слова

Ретинопатия недоношенных, цитокины, экспрессия генов, кровь, внутриглазные жидкости, полимеразная цепная реакция, пролиферация, катаракта, глаукома, увеит.

Введение

Ретинопатия недоношенных (РН), представляющая собой заболевание, связанное с нарушением васкуляризации незрелой сетчатки, является одной из ведущих причин детской слепоты во всём мире [1,2]. Так, раннее выявление и лечение РН снижает частоту необратимой потери зрения и значительно уменьшает неблагоприятные исходы заболевания [3]. Доподлинно известно, что РН отличается полиморфизмом этиопатогенетических факторов, активное изучение которых продолжается до настоящего времени. Многолетние исследования выявили ряд значимых пре- и постнатальных факторов риска развития РН, однако наиболее актуальной современной стратегией, лежащей в основе подходов к скринингу и лечению РН, является выявление её биомаркеров [4]. Современные высокотехнологичные разработки в сфере качественного и количественного определения биомолекул позволяют идентифицировать новые факторы, связанные с патогенетическими механизмами заболеваний, даже в минимальном объёме биологического образца при помощи флуоресцентного окрашивания в сочетании с двухлазерной проточной цитометрией [5,6]. Так, в относительно ограниченном числе новых исследований выявлено, что дисбаланс цитокинов, занимающих ключевое положение в регуляции иммунного ответа, воспалении и ангиогенезе, может способствовать появлению и прогрессированию пролиферативных ретинальных заболеваний – РН [7–9] и диабетической ретинопатии [10–12]. Несмотря на значительное количество опубликованных исследований, посвящённых отдельным аспектам роли цитокинов при РН, комплексный сравнительный анализ их экспрессии в системном (кровь) и локальном (внутриглазные жидкости) компартментах у пациентов разного возраста с различной офтальмопатологией остаётся недостаточно изученным.

Целью настоящего объединённого исследования является проведение сравнительного анализа количественной экспрессии широкого цитокинового спектра в крови и внутриглазных жидкостях пациентов с прогрессирующей РН, катарактой, глаукомой, ПДР и увеитами для выявления общих и специфических паттернов, ассоциированных с пролиферативными и воспалительными процессами.

Keywords

Retinopathy of prematurity, cytokines, gene expression, blood, intraocular fluids, polymerase chain reaction, proliferation, cataract, glaucoma, uveitis.

Материалы и методы

В основу настоящего сравнительного исследования легли результаты двух работ авторов, изучающие уровни экспрессии цитокинов в крови у детей с прогрессирующими стадиями РН и глаукомой (далее – исследование № 1), а также жидкости передней камеры (ЖПК) и стекловидном теле (СТ) у офтальмологических больных с РН, пролиферативной диабетической витреоретинопатией (ПДР), увеитом, катарактой и глаукомой (далее – исследование № 2). Исследование проводилось на протяжении 6 месяцев после одобрения локальным этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова (протокол № 248 от 17.02.2025).

Критерии включения участников в исследование № 1, 2:

1. Наличие достоверного диагноза, выставленного согласно действующим Клиническим рекомендациям Минздрава Российской Федерации;
2. Соответствие возрастным критериям: для пациентов с РН и врождённой катарактой, глаукомой – строго возраст до 1-го года жизни (для пациентов с ПДР и увеитами предопределяющего возрастного критерия выставлено не было – в данную группу вошли молодые взрослые (44 года – 59 лет) и пожилые (60–74 года), отбор которых проведён по остальным критериям);
3. Наличие подписанного добровольного информированного согласия унифицированной формы одним из законных представителей участников – для несовершеннолетних участников исследований (младше 15 лет), или лично участником исследования при достижении им совершеннолетия (старше 15 лет);
4. Для пациентов с увеитом – отсутствие системных проявлений аутоиммунного и ревматологического заболевания в анамнезе и на момент участия в исследовании;
5. Соответствие каждого клинического состояния строго выставленному диагнозу, характеризующее отсутствие сопутствующей патологии зрительного анализатора;
6. Отсутствие реанимационного статуса пациента в рамках течения исследования: для

пациентов с РН – стабильное соматическое состояние, пребывание пациента «вне исследования» в домашних условиях.

Критерии исключения участников исследования № 1,2:

1. Наличие в анамнезе злокачественных новообразований в любых системах, органах и тканях;
2. Отсутствие комплаентности родителей участников исследования и самих пациентов – несоблюдение рекомендаций лечащего врача, нарушение лечебного режима на период наблюдения участника в рамках настоящего исследования;
3. Наличие подтверждённых клинически и серологически активных системных инфекционных заболеваний вирусной, бактериальной, грибковой, протозойной этиологии на период наблюдения участника в рамках настоящего исследования;
4. Наличие лабораторно подтверждённых: ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, сифилиса, туберкулёза;
5. Наличие в анамнезе участника исследования применения: кортикостероидов в течение 1 месяца до включения в исследование, иммуносупрессивных препаратов (азатиоприн, метотрексат, кладрибин, циклофосфамид, митоксантроном) и иммуноглобулинов и/или моноклональных антител (включая натализумаб) и финголидомом в любое время, приём препаратов интерферона бета менее чем за 2 месяца до начала исследования.

Перед включением участников в исследование проводился сбор жалоб, родового анамнеза, анамнеза заболевания, визуальный осмотр участников, проверка остроты зрения, скиаскопия, биомикроскопия, прямая и обратная офтальмоскопия в условиях мидриаза, при необходимости – ультразвуковое исследование глазного яблока, авторефрактометрия, пневмотонометрия переносным пневмотонометром. В конце осмотра – постановка диагноза, разработка тактики ведения больного в зависимости от стадии заболевания и необходимости лазерного и (или) хирургического лечения. После выписки участник исследования находился под наблюдением офтальмолога по месту жительства. Далее осуществлялось стандартное клиническое наблюдение за участником исследования в ближайшем и отдалённом послеоперационном периоде.

Забор крови проводился в операционной до проведения операции перед применением анестезиологического пособия, забор ЖПК и

СТ проводился во время операции до непосредственного проведения её основных этапов, забор крови у пациентов с увеитом проводился в условиях процедурного кабинета с соблюдением правил асептики и антисептики – далее каждый материал помещался в отдельную пробирку и замораживался при температуре -25°C .

Далее посредством метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выполняли исследование уровня экспрессии мРНК генов, кодирующих белки: IL1 α , IL1 β , IL6-1, IL6-2, IL7, IL8, IL10, IL12 α , IL18, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF2, IL1RA, IL6R, IFN γ R1, IFN γ R2, GM-CSF2RA, TNFRSR1A, TNFR1B, FGF1, FGF1R, предварительно проведя реакции обратной транскрипции мРНК соответствующих генов на амплификаторе IQ5 («BioRad», США).

Наборами лабораторных агентов в настоящем исследовании были:

- набор для выделения неспецифичной РНК («QIAGEN», Германия);
- набор реагентов ОТ-1 для обратной транскрипции (ООО «НПФ Синтол», Россия);
- набор реагентов для проведения РТ-ПЦР (ООО «НПФ Синтол», Россия).

Образцы венозной крови, ЖПК, СТ после размораживания подвергались гомогенизации в 2 мл RLT буфера, далее проводили отбор 350 мкл лизата в отдельные пробирки, добавление 70% этанола в пропорциях 1:1 пипеткой, полученный объём (700 мкл) был перенесён на колонку.

Статистические расчёты выполнялись при помощи программы Statistica 7. Для определения средних единиц уровня экспрессии генов применялся непараметрический анализ с корреляцией по Спирмену.

Исследование № 1 включало 19 участников в возрасте до 1 года, из которых 12 участников наблюдались с прогрессирующими стадиями РН (III+-V), остальные 7 участников – с врождённой катарактой. Основным методом исследования № 1 являлся забор периферической крови и дальнейшая количественная оценка показателя генной экспрессии 21 потенциального цитокина (IL1 α , IL1 β , IL6-1, IL6-2, IL7, IL8, IL10, IL12 α , IL18, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF2, IL1RA, IL6R, IFN γ R1, IFN γ R2, GM-CSF2RA, TNFRSR1A, TNFR1B, FGF1, FGF1R).

Исследование № 2 включало 38 участников из разных возрастных групп с такими офтальмопатологиями, как: 13 участников с ПДР, из которых 7 человек из группы молодых взрослых, а 6 человек из группы пожилых; 9 участников до 1 года с РН, из которых у 6 пациентов выявлена

активная стадия, у 3 – рубцовая; 5 участников с увеитом с экссудацией; 12 участников до 1 года с катарактой; 10 участников до 1 года с глаукомой. Материалом исследования стала ЖПК и/или СТ в объёме 0,1-0,2 мл, полученная в рамках интраоперационного забора.

Настоящее объединённое исследование строится на анализе, сравнении и обобщении полученных результатов исследования № 1 и № 2.

Результаты

Согласно результатам исследования № 1, в группе пациентов с РН выявлено значительное повышение уровней экспрессии генов цитокинов. Так, наиболее высокие количественные значения (от 50,0 до сотен миллионов копий) отмечены для GM-CSF2, IFN- γ , IL6-1, IL-10, IL-12, IL-18, IL1RA, IL6R, IFN γ R2, TNFR1A/B, GM-CSF2RA. Максимальные значения зафиксированы для GM-CSF2 и IFN- γ . В группе пациентов с катарактой в некоторых случаях определялось умеренное повышение экспрессии IFN- γ , его рецептора IFN γ R2, IL18, IL10, IL6-1. Редко – экспрессии IL1 α и его рецептора IL1RA, а также рецепторов TNFR1A/B (рис. 1).

В рамках исследования № 2 наиболее высокие уровни экспрессии (значения >50,0 копий) обнаружены в следующем порядке убывания (рис. 2):

1. Острое воспаление (увеиты): максимальные значения для IL1 β , IL6-2, TNF- α , FGF1.
2. Активная РН: высокие уровни IL1 α , IL1 β , IL6-1, IL18, IL1R, IFN γ R1/2, CSF2R1A, TNFR1A/B, IGFR1.
3. ПДР: повышенные уровни IL6-1, IL10, CSF2, IL6R, IFN γ R1, TNFR1A, IGFR1, FGF1.

Катаракта и глаукома: в преобладающем числе случаев экспрессия цитокинов определялась в незначительных количествах (<50,0), существенно отличающих данные группы от пациентов с изучаемыми воспалительными и пролиферативными заболеваниями.

Сравнительный анализ крови и внутриглазных жидкостей продемонстрировал следующие результаты (рис. 3):

- при РН ключевые провоспалительные (IFN- γ , IL6, IL18) и ангиогенные (GM-CSF2) цитокины повышены как в системном кровотоке, так и в локальной среде глаза (СТ).
- при увеитах выраженная цитокиновая активность (особенно IL1, IL6, TNF- α), преимущественно локализованная в СТ.
- катаракта может сопровождаться слабовыраженным системным (кровь) или локальным (ЖПК/СТ) воспалительным ответом, в отличие от глаукомы, при которой значимых изменений не обнаружено.

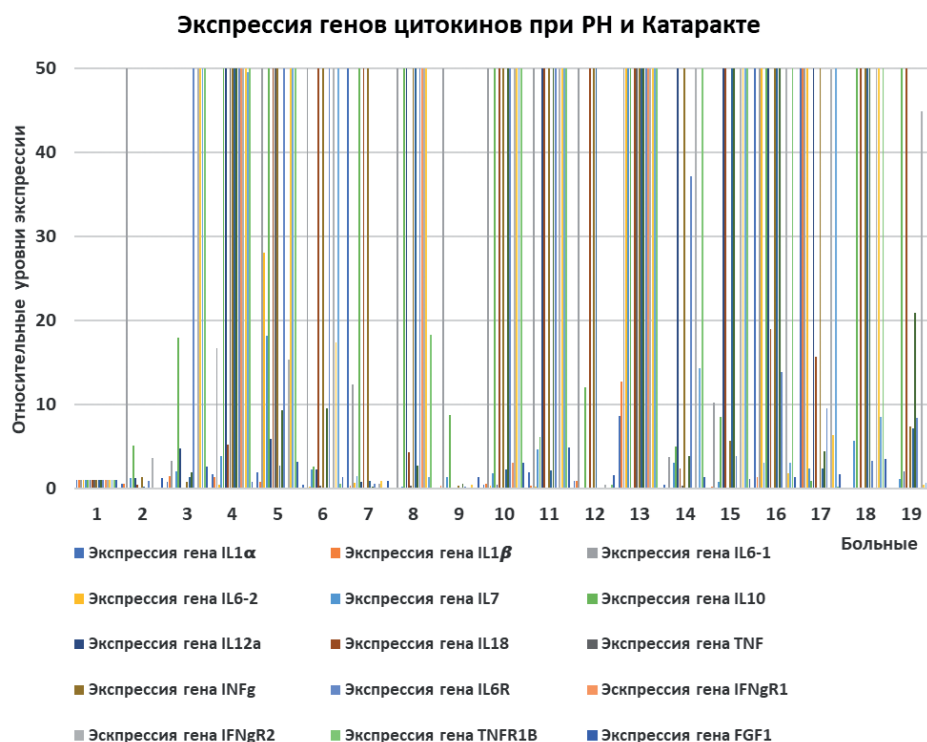


Рис. 1. Результаты исследования № 1

Обсуждение

Результаты двух исследований демонстрируют сложную и многоуровневую роль цитокиновой сети при офтальмопатологиях.

1. Системный компонент при РН: значительное повышение широкого спектра цитокинов в крови у детей с прогрессирующей РН указывает на участие системного иммунного ответа и воспаления в патогенезе заболевания, что мо-

жет иметь значение для мониторинга данных биомаркеров в комбинации с традиционными клиническими параметрами и разработки новых системных терапевтических подходов.

2. Локальные внутриглазные процессы: данные по внутриглазным жидкостям подчёркивают важность местной активности цитокинов. Выявлена чёткая градация уровней экспрессии: максимальные – при остром воспалении (уве-

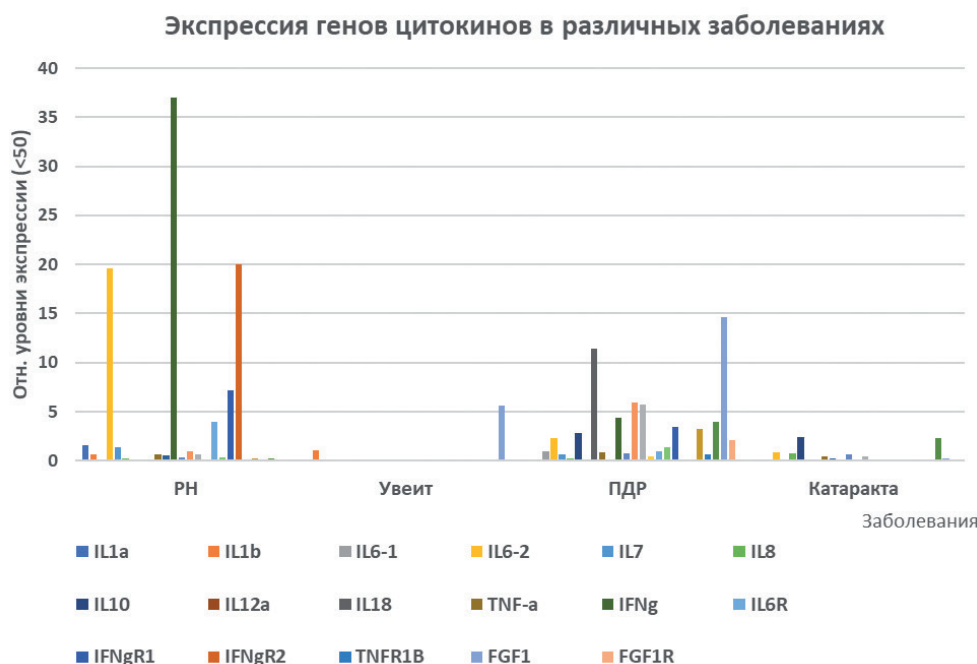


Рис. 2. Результаты исследования № 2

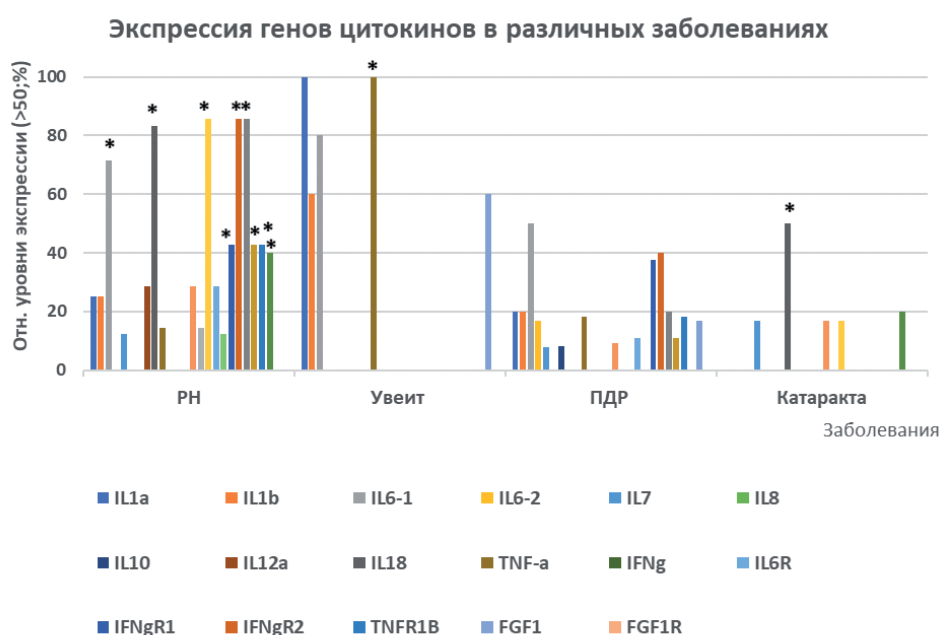


Рис. 3. Сравнение результатов исследований № 1,2

иты), высокие – при активной пролиферации (РН, ПДР), низкие – при заболеваниях без выраженного воспалительно-пролиферативного компонента (катаракта, глаукома).

3. Потенциальные биомаркеры: выявленные специфические паттерны экспрессии, такие как высокие уровни GM-CSF2 и IFN- γ в крови при РН или IL1/IL6/TNF- α в СТ при увеитах, могут служить основой для разработки диагностических и прогностических биомаркеров.
4. Терапевтические мишени: полученные данные обосновывают целесообразность исследований, направленных на модуляцию цитокинового каскада (например, ингибирование IFN- γ , GM-CSF2) для лечения тяжёлых пролиферативных стадий РН.

Литература

1. Hellstrom A, Smith LE, Damman O. Retinopathy of prematurity. *Lancet*. 2013;382:1445–1457.
2. Lynch AM, Wagner BD, Hodges JK, et al. The relationship of the subtypes of preterm birth with retinopathy of prematurity. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217:354.
3. Early Treatment For Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol*. 2003;121:1684–1694.
4. Park YJ, Woo SJ, Kim YM, et al. Immune and Inflammatory Proteins in Cord Blood as Predictive Biomarkers of Retinopathy of Prematurity in Preterm Infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019 Sep 3;60(12):3813–3820. doi:10.1167/iops.19-27258.
5. Sennikov SV, Krysov SV, Injelevskaya TV, et al. Quantitative analysis of human immunoregulatory cytokines by electrochemiluminescence method. *J Immunol Methods*. 2003;275:81–88. doi:10.1016/s0022-1759(03)00007-3.
6. Knight PR, Sreekumar A, Siddiqui J, et al. Development of a sensitive microarray immunoassay and comparison with standard enzyme-linked immunoassay for cytokine analysis. *Shock*. 2004;21:26–30. doi:10.1097/01.shk.0000101668.49265.19.
7. de Alba Campomanes AG, Navarro JE, Shaffer J, et al. Postnatal serum insulin-like growth factor I and retinopathy of

Выводы

Прогрессирующие пролиферативные стадии РН сопровождаются выраженными изменениями в системе цитокинов на уровне системной (кровь) и локальной (СТ) регуляции. Наиболее высокими уровнями экспрессии генов цитокинов отличаются воспалительные процессы (увеиты), а также активные витреоретинальные пролиферативные заболевания (РН, ПДР). Врождённая катаракта и глаукома отличаются минимальной цитокиновой активностью на системном и локальном уровнях. Полученные данные о специфических паттернах экспрессии цитокинов формируют основу для создания новых диагностических и прогностических моделей, а также таргетной коррекции выявленных отклонений при пролиферативной витреоретинопатии.

prematurity in Latin American infants. *Ophthalmic Epidemiol*. 2021;28:213–219. doi:10.1080/09286586.2020.1812090.

8. Silveira RC, Fortes Filho JB, Procianny RS. Assessment of the contribution of cytokine plasma levels to detect retinopathy of prematurity in very low birth weight infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1297–301. doi:10.1167/iops.10-6279.

9. Sato T, Kusaka S, Shimojo H, et al. Vitreous levels of erythropoietin and vascular endothelial growth factor in eyes with retinopathy of prematurity. *Ophthalmology*. 2009;116:1599–603. doi:10.1016/j.optha.2008.12.023.

10. Файзрахманов Р.Р., Шишкин М.М., Сараева С.Н. Современный взгляд на особенности патогенеза пролиферативной диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2025;141(1):92–98. doi:10.17116/oftalma202514101192.

11. Коновалова К.И., Шишкин М.М., Файзрахманов Р.Р. Сравнительный анализ уровня провоспалительных цитокинов в слезной жидкости у пациентов с далекозашедшей стадией пролиферативной диабетической ретинопатии и осложненной начальной катарактой. *Современные технологии в офтальмологии*. 2022;1(41):61–66. doi:10.21516/2072-0076-2021-14-3-14-18.

12. Yazib SA, Choo MM, Khaliddin N, et al. The association of cytokine levels and postnatal factors with retinopathy of prematurity. *Indian J Ophthalmol*. 2025 Jan 1;73(Suppl 1):S139–S143. doi:10.4103/IJO.IJO_515_24.

Сведения об авторах

Балашова Лариса Маратовна – д.м.н., профессор, генеральный директор, зав. отделом экспериментальной и клинической, офтальмологии НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей». Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва; Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Москва. E-mail: blm1962@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-9349-7092. eLibrary SPIN: 8314-7638.

Кузнецова Юлия Дмитриевна – к.м.н., руководитель детской офтальмологической службой НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей», врач-офтальмолог, Российская детская клиническая больница – филиал Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва; E-mail: kuznecovay2011@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4985-7198. eLibrary SPIN: 9251-6263.

Лесовой Сергей Валерьевич – зав. детским офтальмологическим отделением Российской детской клинической больницы – филиала Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва; руководитель лазерным хирургическим отделом НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей», Москва. E-mail: sergforester1@mail.ru. ORCID: 0009-0006-9249-5013. eLibrary SPIN: 6033-6471.

Богомолова Екатерина Александровна – научный сотрудник отдела экспериментальной и клинической, офтальмологии НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей», Москва. E-mail: bogomolova.ekaterina.2000@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1764-6599. eLibrary SPIN: 4593-4110.

Быковская Светлана Нюневна – д.м.н., профессор, зав. отделом регенеративной медицины ФГАОУ РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ. ORCID 0009-0005-8853-0317.

Бахарев Алексей Викторович – к.м.н., руководитель хирургической офтальмологической службой НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей». E-mail: Bakharev8@bk.ru. ORCID: 0009-0005-3832-8532. eLibrary SPIN: 4989-9467.

Кантаржи Елена Петровна – д.м.н., профессор, зав. отделом статистики НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей». E-mail: Kantardgi-1945@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5223-084x. eLibrary SPIN: 4310-9339.

Салмаси Жан Мустафаевич – д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии Института биологии и патологии человека. ФГАОУ РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва. E-mail: profjms@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8524-0019. eLibrary SPIN: 9350-1266.

Поступила 22.04.2026.