

На правах рукописи

Сорожкина Екатерина Сергеевна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УВЕИТА ПРИ БОЛЕЗНИ БЕХЧЕТА

3.1.5. Офтальмология

3.2.7. Аллергология и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор института – заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор **Нероев Владимир Владимирович**).

Научные руководители:

Нероев Владимир Владимирович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор;
Балацкая Наталья Владимировна, кандидат биологических наук.

Официальные оппоненты:

Ходжаев Назрулла Сагдуллаевич – профессор, доктор медицинских наук, заместитель генерального директора по организационной работе и инновационному развитию ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Ястребова Наталия Евгеньевна – профессор, доктор медицинских наук, заведующая лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток» им. И.И. Мечникова.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится « » 2023 года в 14 часов на заседании диссертационного совета 21.1.024.01 при ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (105062, Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19).

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.igb.ru и в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (105062, Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19).

Автореферат разослан « » 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета:

доктор медицинских наук, профессор

Филатова И.А.

Общая характеристика работы

Актуальность работы

Болезнь Бехчета (ББ) – хронический, рецидивирующий, системный васкулит неясной этиологии с характерным географическим и этническим распространением и широким спектром полиорганных клинических проявлений, включая глаз, обусловленных вовлечением сосудов любого типа и калибра.

Глазные проявления болезни Бехчета имеют длительное течение, частое развитие осложнений, как наиболее критичных в отношении качества жизни пациентов. Глаза вовлекаются в 30-85% случаев (Нугуманова А.М., 2012; Хамитов Р.Ф., 2013; Hiroshi K., 2007; Kechida M., 2016; Kitaichi N., 2007) как в дебюте, так и в развернутой стадии болезни (Головач И.Ю., 2018; Hiroshi K., 2007). Страдают прогностически наиболее значимые структуры глаза – сетчатка, сосудистая оболочка и зрительный нерв (Лисицына Т.А., 2016; Kaburaki T., 2014; Mohamad J.Z., 2016). Отличительная особенность увеитов при ББ (БУ) - внезапные обострения, длящиеся 2-4 недели и приводящие к развитию осложнений, основной причины необратимого снижения зрительных функций. Несмотря на проводимое лечение, процент слепоты остается все еще очень высоким (25%).

В патогенезе ББ обсуждается роль генетической предрасположенности (Алекберова З.С., 2015; Oğuz A.K., 2016), нарушений в иммунной системе (Kaneko F., 2011; Lehner T., 1997) и факторов окружающей среды (Direskeneli H., 2001; Gerardi M.C., 2016; Van der Houwen T., 2016). В частности, важную роль отводят патологической гиперактивации врожденного и адаптивного звеньев иммунитета, а также вирусной и бактериальной инфекции. Механизмы вовлечения глаз в патологический процесс при ББ, так же как и причины значительного разброса в частоте и выраженности клинической симптоматики заболевания в разных странах, остаются неясными.

Показано, что агрессивное течение воспаления при БУ связано с повышенной реактивностью Т-цитотоксических лимфоцитов (Тц-лф), направленной на компоненты сосудистой стенки, тканей глаза; активацией субпопуляции Т-хелперов (Тх) (Hirohata S., 2008; Park U.C., 2014; Yamamoto J.H., 1993). Однако, по данным Eksioglu-Demiralp E., 2001; Fujimori K., 2008; Zierhut M., 2003, гиперответ Т-лф может быть вторичным по отношению к нарушениям в неспецифическом звене иммунитета, где отмечается повышение функциональной активности нейтрофилов, изменение экспрессии рецепторов врожденного иммунитета, распознающих патогенные

паттерны (в частности, Toll-like рецепторов (TLRs)), а также нарушение зрелости дендритных клеток (ДК) с высокой экспрессией костимулирующих молекул и белков МНС II класса даже при неактивном БУ. Важную роль в поддержании воспаления отводят нарушениям в системе цитокинов – основном координаторе неспецифического и адаптивного иммунного ответа (Trifari S., 2009; Wang, H. H., 2011).

Данные литературы, касающиеся нарушений в звеньях иммунной системы, противоречивы, что может быть обусловлено этническими особенностями пациентов, способами формирования клинических выборок, использованием разных лабораторных технологий для оценки иммунологических показателей.

Получены доказательства роли ряда патогенов в развитии ББ, среди которых особое место отводят вирусам герпеса человека (ВГЧ): простого герпеса 1 типа, Эпштейна-Барр и цитомегаловирусу (Pineton de Chambrun M., 2012; Sohn S., 1998). Обсуждаются их иммуномодулирующие свойства, способность поддерживать субклиническую воспалительную активность, но единого мнения по данному вопросу не достигнуто [Do Young Kim, 2013]. Кроме того, на фоне иммуносупрессивной и противовоспалительной терапии увеличивается вероятность реактивации латентных ВГЧ.

Таким образом, изучение патогенетических и клинико-иммунологических особенностей увеитов при ББ остается актуальным в целях дальнейшей оптимизации терапевтических стратегий, уменьшения числа рецидивов и достижения стойкой ремиссии.

Цель исследования

Определение клинико-иммунологических параметров прогнозирования развития и течения увеита при болезни Бехчета.

Задачи исследования

1. Представить клинико-эпидемиологическую характеристику когорты больных с БУ, проживающих на территории Российской Федерации, по данным обращаемости в НМИЦ ГБ. им Гельмгольца МЗ РФ.
2. Выявить возможные ассоциации клинического течения БУ с активацией герпесвирусной инфекцией (ГВИ).
3. Провести сравнительную оценку системной и локальной продукции иммуномедиаторов при ББ, протекающей с увеитом и без поражения глаз, определить роль провоспалительных и хемоаттрактантных цитокинов в патогенезе БУ.

4. Изучить особенности сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови у пациентов с БУ.
5. Охарактеризовать функциональную активность клеточного звена неспецифического иммунитета на основании исследования экспрессии TLRs.
6. Изучить состояние факторов иммунной защиты в зависимости от характера течения БУ и активности ГВИ.
7. На основании комплексного анализа данных разработать клинко-иммунологические параметры прогнозирования развития и течения БУ.

Научная новизна исследования

1. Впервые на основании комплексного клинко-инструментального исследования БУ на когорте пациентов, проживающих в РФ, выделены и охарактеризованы нетипичные симптомы, ассоциированные с реактивацией ГВИ.
2. Впервые определена патогенетическая роль нарушений системного и локального иммунитета, в частности цитокинов провоспалительной и хемоаттрактантной направленности, в механизме вовлечения глаза в патологический процесс при ББ.
3. Впервые охарактеризованы особенности состава и функциональной активности лейкоцитов периферической крови (с использованием параметров экспрессии TLRs), локальной и системной продукции иммунномедиаторов в группах пациентов с увеитами и без поражения глаз, в том числе на фоне реактивации ГВИ.

Практическая значимость

1. Определены информативные изменения в иммунологическом статусе пациентов с увеитами при ББ (недостаточность противовирусного ответа на фоне реактивации ГВИ, определяемой достоверным усилением дисбаланса в гранулоцитарно-моноцитарном звене и сохранением высокой системной продукции иммунномедиаторов, отличающих группу пациентов с УР), что расширяет возможности иммунологического мониторинга при ведении пациентов в офтальмологической клинике.
2. Обоснована целесообразность проведения лабораторных исследований с целью определения маркеров реактивации ГВИ в комплексном обследовании пациентов с БУ (особенно с нетипичной клинической симптоматикой) для прогнозирования течения заболевания и выбора адекватной лечебной тактики.

3. Предложен лабораторный биомаркер риска вовлечения глаз при ББ – IL-8/CXCL-8, наличие которого в СК в концентрации $\geq 2,4$ пг/мл, может быть использовано в ревматологической клинике при мониторинге заболевания.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертации стало последовательное применение методов научного познания. Работа выполнена в дизайне ретроспективного и проспективного открытого когортного исследования с использованием клинических, инструментальных, аналитических и статистических методов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Представлена эпидемиологическая, национальная и клиническая характеристика увеита у пациентов с болезнью Бехчета, проживающих в Российской Федерации, по данным обращаемости в НМИЦ ГБ им. Гельмгольца.
2. Выявлены клинические особенности БУ на фоне активации ГВИ.
3. Определены достоверные сдвиги в составе и функциональной активности лейкоцитов периферической крови, системной и локальной продукции провоспалительных и хемоаттрактантных белков, указывающие на их вклад в патогенез БУ.
4. Доказано влияние реактивации системной ГВИ на иммунологические показатели пациентов с ББ, протекающей с увеитом и без поражения глаз.
5. Определены критерии риска развития БУ на основании комплексного анализа клинико-инструментальных и лабораторных данных.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Степень достоверности полученных результатов определяется достаточным и репрезентативным объемом выборок исследований и использованием современных клинико-инструментальных методов обследования. Методы статистической обработки адекватны поставленным задачам. Положения, выводы и практические рекомендации аргументированы и логически вытекают из результатов многоуровневого анализа. Основные положения диссертации доложены на научно-практических конференциях: XVI Дни иммунологии (Санкт-Петербург, 2017), XXIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики» (Москва, 2018), XIV и XV Российский общенациональный офтальмологический форум (Москва, 2021,

2022), VII Российский конгресс лабораторной медицины (Москва, 2021), VIII Съезд ревматологов с международным участием (Москва, 2021).

Апробация диссертационной работы состоялась 17 августа 2022 года на Межотделенческой научной конференции ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ из них 5 - в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные данные внедрены и применяются в клинической практике при обследовании пациентов во Взрослом консультативно – поликлиническом отделении и отделе патологии сетчатки и зрительного нерва, а также вошли в материалы лекций учебных курсов Кафедры непрерывного медицинского образования ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца».

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 183 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 3-х глав, описывающих результаты собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 34 отечественных и 223 зарубежных источника. Диссертация иллюстрирована 45 таблицами и 31 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России на базе отдела патологии сетчатки и зрительного нерва (начальник отдела – академик РАН, профессор, д.м.н. Нероев В.В.), взрослого консультативно-поликлинического отделения (начальник отдела – к.м.н. Пак Н.В.) и отдела иммунологии и вирусологии (начальник отдела - к.б.н. Балацкая Н.В.).

Общая характеристика клинического материала

Обследовано 157 пациентов с ББ, подтверждённым в институте ревматологии ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой (60 женщин и 97 мужчин) (311 глаз). Офтальмологические обследования проведены 126 больным (231 глаз).

В зависимости от наличия и активности увеита выделили 4 группы пациентов (классификация Кацнельсона Л.А.-Танковского В.Э., 1998 г.): 1 – активный увеит

(УА) – 27 человек (49 глаз), 2 - субактивный увеит (УСА), 23 человека (39 глаз), 3– увеит в ремиссии (УР) – 59 человек (109 глаз), 4– пациенты без глазных проявлений (БГП) – 17 человек (34 глаза); в 31 случае проведен ретроспективный анализ данных историй болезни. Группу контроля составили 43 условно здоровых человека, сопоставимые по полу и возрасту.

Группа БГП - 7 женщин и 10 мужчин в возрасте от 20 до 55 лет ($38,6 \pm 10,6$). Группа УА - 11 женщин и 16 мужчин в возрасте от 26 до 53 лет ($Me=31$, $Q1-Q3=28,0-41,0$) с признаками активного воспаления в переднем отрезке, стекловидном теле (СТ) и/или заднем отрезке глаза. Группа УСА - 11 женщин и 12 мужчин в возрасте от 26 до 50 лет ($36,3 \pm 7,3$) с остаточными признаками активного воспаления в переднем отрезке, СТ и/или заднем отрезке. Группа УР (медикаментозная ремиссия более 3 месяцев) - 15 женщин и 44 мужчин в возрасте от 22 до 62 лет ($39,2 \pm 10,2$) с признаками перенесенного воспаления в переднем и/или заднем отрезке глаза, СТ.

Офтальмологическое обследование включало определение максимальной корригированной остроты зрения (МКОЗ), измерение ВГД, биомикроскопию переднего и заднего отделов глаза, офтальмоскопию глазного дна, фоторегистрацию глазного дна. Изменения в макулярной зоне (МЗ) и диске зрительного нерва (ДЗН) определяли по данным оптической когерентной томографии (ОКТ). Офтальмологические обследования выполнены автором самостоятельно совместно с сотрудниками Отдела патологии сетчатки и зрительного нерва.

По данным ОКТ кистовидный макулярный отек в 1 балл фиксировали при толщине сетчатки в фовеа 300 – 400 мкм, 2 балла- 401 – 600 мкм, 3 балла- > 600 мкм.

Состояние ДЗН оценивали по клинической картине с помощью фоторегистрации глазного дна. За 1 степень принята слабая деколорация височной половины ДЗН; за 2 степень – равномерное небольшое побледнение ДЗН; за 3 степень – значительное равномерное побледнение ДЗН (частичная атрофия зрительного нерва (ЧАЗН)); за 4 степень – полная деколорация (белый) ДЗН (ЧАЗН).

Во всех группах ББ собирали анамнестические данные о получаемом на момент осмотра лечении и типировании по HLA-B51.

Иммунологическое обследование включало 1) выявление IgG- и IgM-антител к разным антигенам ВПГ 1, ВПГ 2, ЦМВ и ВЭБ в иммуноферментном анализе (ИФА) (106 человек) (ИФА-анализатор «LAZURITE» (США)); 2) определение субпопуляционного состава лимфоцитов (85 человек) с использованием

моноклональных антител системы Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США) и 3) оценку экспрессии Толл-рецепторов (TLR2, TLR4, TLR5, TLR9) гранулоцитов и моноцитов (85 человек) в цельной крови пациентов методом проточной цитометрии (BD FACS Canto II); 4) оценку системного (97 проб сыворотки крови (СК)) и локального цитокинового статуса (137 проб слезной жидкости (СЖ): 48 – с УА, 74 – с УР, 15 – БГП) методом мультиплексного анализа 20 медиаторов различного биологического действия: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12p70, IL-13, IL-18, IFN- γ ; CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL5/RANTES, CCL11/Eotaxin, CXCL1/GRO- α , CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CXCL12/SDF-1 α , GM-CSF, TNF- α (анализатор MAGPIX, (Luminex Corp., США)). Контрольная группа (КГ)– 34 пробы СК и 10 проб СЖ от условно здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Большая часть исследований выполнены автором самостоятельно. На основании серологического анализа в каждой группе выделяли подгруппы с реактивацией и хронической ГВИ.

Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ проведен автором самостоятельно с использованием стандартных пакетов прикладных программ MS Excel, Biostat v5, программы StatTech v. 2.8.5 (ООО "Статтех", Россия).

Количественные показатели с нормальным распределением (критерии Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова) описывали с помощью средних арифметических величин (M), стандартных отклонений (SD) и границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). При отсутствии нормального распределения - с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения - с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий), критерия Геймса-Хауэлла (при неравных дисперсиях). Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального - с помощью U-критерия Манна-Уитни; трех и более групп - с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных

таблиц сопряженности выполнены с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, точного критерия Фишера, многопольных таблиц - с помощью критерия хи-квадрат Пирсона.

Достоверными считали различия при уровне значимости (p) менее 0.05.

Результаты собственных исследований

Клинико-эпидемиологическая характеристика когорты пациентов с ББ

53% выборки составили представители национальностей республик Северного Кавказа и стран Закавказья, 28,3% – славяне (русские), 18,6% - уроженцы Средней и Восточной Азии (5,4%), Казахстана (3,5%) и других республик РФ и стран СНГ (9,7%). Отличий в частоте глазных проявлений между ними не выявлено. Соотношение по полу составило 1,5:1 (М:Ж).

Возраст пациентов с увеитами и БГП колебался от 20 до 62 лет. Высокая частота дебюта глазного воспаления отмечена в молодом возрасте - 21-24 года. Продолжительность ББ варьировала - 7 лет в группе УА, 14-15 лет - в группах УСА, УР и БГП, и коррелировала с длительностью увеита (от 4 до 12 лет) во всех группах.

Позитивность по гену HLA-B51, ассоциированному с поражением глаз, обнаружена в целом у 64,1% пациентов.

В большинстве случаев выявлено тяжелое течение увеита, преимущественно двухстороннее (238 глаз -76,5%), с рецидивирующим характером воспалительного процесса (148 глаз -75,1%). Наиболее часто наблюдали генерализованный увеит - 134 глаза (68%), изолированный передний – в 5 глазах (2,5%), изолированный задний – в 58 глазах (29,5%) (Рис. 1).

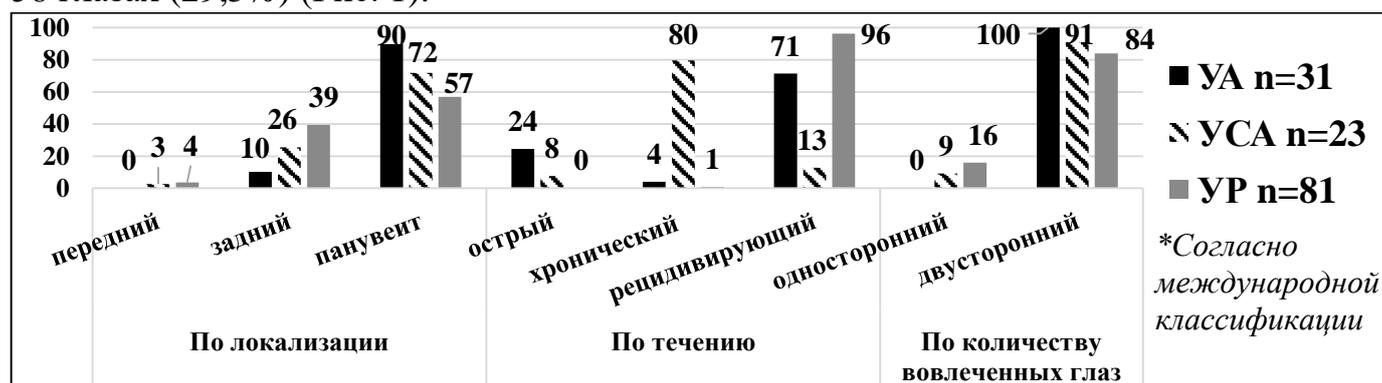


Рисунок 1. Характеристика основных групп БУ по частоте локализации, типу течения внутриглазного воспаления и вовлечению парного глаза (%).

Воспалительные изменения в структурах глаза при БУ

На момент офтальмологического обследования и сбора биопроб большинство пациентов на постоянной основе получали назначенную ревматологами системную

противовоспалительную и иммуносупрессивную терапию. Превалировало сочетание глюкокортикостероидов (ГКС) с иммуносупрессантами (ИСТ): как правило, метипред с азатиоприном (АЗА) и/или циклоспорином (Цс). Местная терапия при активности увеита состояла из 1) ГКС в виде инстилляций и инъекций; 2) нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в виде инстилляций. При необходимости также назначали гипотензивные препараты, мидриатики.

В переднем отрезке (8 глаз - 4%) выявлена инъекция конъюнктивы, признаки негранулематозного воспаления: запотелость эндотелия роговицы, мелкие и/или пылевидные преципитаты (24 глаза - 27,3%); более крупные преципитаты достоверно чаще были в группе УА (16 глаз (32,6%), чем в УСА (4 глаза -10,3%) и УР (5 глаз - 4,6%) ($p < 0.05$). Клеточную реакцию в ПК глаза, в основном слабовыраженную (1+), у пациентов с УА наблюдали в 12 глазах (24,5%), гипопион в 5 глазах (10,2%). Воспалительный процесс чаще всего осложнялся формированием задних синехий (7,6%) и катаракты (75,6%), в большинстве случаев заднекапсулярной (59%).

В СТ при УА и УСА преобладала слабовыраженная (1+) и умеренная (2+) клеточная реакция - 34 (70,8%) и 19 (48,7%) глаз соответственно (Nussenblatt et al. 1985) (Табл. 1). В ряде случаев в исходе воспаления в нижней части СТ, преретинально офтальмоскопировали комковые образования, описываемые Pknur Tugal-Tutkun, Pinar Sakar Ozdal (2013) как мелкие, белесоватые, «жемчужные преципитаты».

Таблица 1. Характеристика изменений в стекловидном теле в группах БУ

Показатель	Категории	Группы ББ, глаз (%)			p value
		УА n=48	УСА n=37	УР n=108	
Клеточная реакция СТ	1+	15 (31,2)	14 (35,9)	4 (3,7)	< 0,001*
	2+	19 (39,6)	5 (12,8)	1 (0,9)	
	3+	2 (4,2)	1 (2,6)	0 (0,0)	
	4+	1 (2,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Снежные комки, снежные наносы		18 (37,5)	3 (7,7)	0 (0,0)	$p_{УА - УСА} = 0,002$ $p_{УА - УР} < 0,001$ $p_{УСА - УР} = 0,003$

Примечание: # - среди глаз с клеточной реакцией СТ; n-количество глаз; $p < 0,05$ -различия показателей статистически значимы; * - здесь и далее- сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнено с помощью критерия хи-квадрат Пирсона.

Таким образом, в ходе собственных клинических исследований выявлены признаки, не типичные для БУ (Табл. 2), что указывает на необходимость поиска патогенетических факторов, играющих роль в их развитии.

Таблица 2. Нетипичные симптомы увеита при болезни Бехчета.

Нетипичные симптомы	Обнаружено
Выраженная инъекция конъюнктивы	6 чел (7 глаз, 3%)
Средние и крупные преципитаты на эндотелии роговицы	6 чел (7 глаз, 3%)
«Снежные комки и наносы»	12 чел (18 глаз, 8%)

Состояние сетчатки и макулярной зоны (МЗ), артерий и вен, диска зрительного нерва (ДЗН) представлено в Таблицах 3, 4, 5. В группе с УА макула вовлекалась в большинстве глаз (31 глаз - 69%), диффузный отек отмечен в 14 глазах (31,1%), кистовидный отек в 3 балла в 10 глазах (22,2%), эпиретинальный фиброз (ЭРФ) и атрофию выявили в 14 глазах (33,4%) и в 4 глазах (9,6%) соответственно. В группе с УСА МЗ вовлекалась реже – 7 глаз (18%); в 10 глазах (25,6%) диагностирован ЭРФ, в 3 глазах (7,7%) атрофические изменения МЗ. В группе УР ЭРФ наблюдали в 20 глазах (18,6%), атрофические изменения - в 27 глазах (24,9%) (Табл. 3).

Таблица 3. Характеристика изменений макулярной зоны в группах БУ

Показатель	Категории	Группы ББ, глаз (%)			p value
		УА n=45	УСА n=39	УР n=108	
Макулярный отек	Диффузный отек	14 (31,1)	3 (7,7)	3 (2,8)	< 0,001 $p_{УА-УР} < 0,001$
	Кистовидный отек (1 балл)	4 (8,9)	1 (2,6)	1 (0,9)	
	Кистовидный отек (2 балла)	3 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	Кистовидный отек (3 балла)	10 (22,2)	3 (7,7)	0 (0,0)	
	Ламеллярный разрыв	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,9)	
Эпиретинальный фиброз		14 (33,4)	10 (25,6)	20 (18,6)	0,341
Атрофические изменения МЗ	1 DD	2 (4,8)	2 (5,1)	17 (15,7)	0,234
	2 DD	2 (4,8)	1 (2,6)	5 (4,6)	
	3 DD	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (3,7)	
	4 DD	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,9)	

Примечание: n-количество глаз; $p < 0,05$ -различия показателей статистически значимы.

Патологические изменения сосудов с вовлечением артерий и вен наблюдали в большинстве случаев в группах УА и УСА (Табл. 4). Полосы сопровождения и муфты по ходу сосудов были более характерны для групп УА и УСА, окклюзивные процессы отмечены примерно у трети пациентов каждой группы, но наибольшую площадь поражения сосудов (3 и 4 сектора) наблюдали в группе УР - 11 глаз (10,2%) с поражением артерий и 11 глаз (10,2%) с поражением вен.

Папиллит или оптический неврит (ОН) регистрировали у трети больных с УА – 16 глаз (34%), в 4 глазах (10,3%) с УСА. Атрофические изменения ДЗН (ЧАЗН) чаще наблюдали в группе УР - 58 глаз (53,7%), с увеличением площади поражения ДЗН (3 и 4 степень), вплоть до полной атрофии. В группах УА и УСА ЧАЗН (1-3 степени) встречали в 12 (25,5%) и 16 глазах (41%) соответственно (Табл. 5).

Таблица 4. Сосудистые изменения в заднем отрезке глаза в группах БУ

Показатель	Категории	Группы ББ, глаз (%)			p value
		УА n=45	УСА n=39	УР n=108	
Полосы сопровождения артерий, муфты		39 (86,6)	23 (58,9)	25 (23,1)	< 0,001 p _{УА-УСА} < 0,001 p _{УА-УР} < 0,001 p _{УСА-УР} = 0,012
Окклюзия артерий	1 сектор	14 (31,1)	15 (38,5)	22 (20,4)	0,022
	2 сектора	4 (8,9)	0 (0,0)	3 (2,8)	
	3 сектора	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (3,7)	
	4 сектора	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (6,5)	
Полосы сопровождения вен, муфты		38 (84,4)	24 (61,5)	15 (13,9)	< 0,001 p _{УА-УСА} = 0,005 p _{УА-УР} < 0,001 p _{УСА-УР} < 0,001
Окклюзия вен	1 сектор	15 (33,3)	15 (38,5)	22 (20,4)	0,066
	2 сектора	2 (4,4)	0 (0,0)	3 (2,8)	
	3 сектора	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (4,6)	
	4 сектора	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (5,6)	

Примечание: n-количество глаз; p < 0,05-различия показателей статистически значимы.

Таблица 5. Характеристика изменений диска зрительного нерва в группах БУ

Показатель	Категории	Группы ББ, глаз (%)			p value
		УА n=45	УСА n=39	УР n=108	
Гиперемия ДЗН		16 (34,0)	4 (10,3)	1 (0,9)	< 0,001 p _{УА-УСА} = 0,012 p _{УА-УР} < 0,001 p _{УСА-УР} = 0,012
Деколорация ДЗН	1 степень	10 (21,3)	12 (30,8)	36 (33,3)	0,049 p _{УА-УР} = 0,045
	2 степень	1 (2,1)	2 (5,1)	6 (5,6)	
	3 степень	1 (2,1)	2 (5,1)	7 (6,5)	
	4 степень	0 (0,0)	0 (0,0)	9 (8,3)	

Примечание: n-количество глаз; p < 0,05-различия показателей статистически значимы.

Практически треть пациентов (27,7%) со значительно низкой остротой зрения (слабовидящие и слепые) выявлены уже при первичном осмотре (Табл. 6).

Таблица 6. Распределение групп больных по остроте зрения.

МКОЗ	Группы ББ, глаз (%)				p value
	БГП n=34	УА n=49	УСА n=35	УР n=105	
< 0,04	0 (0,0)	12 (24,5)	4 (11,4)	16 (15,3)	< 0,001 p _{БГП-УА} < 0,001 p _{УА-УСА} = 0,037 p _{УА-УР} = 0,002
0,05-0,2	2 (5,9)	14 (28,6)	3 (8,6)	9 (8,6)	
0,3 и >	32 (94,1)	23 (46,9)	28 (80,0)	80 (76,2)	

Примечание: n-количество глаз; p < 0,05-различия показателей статистически значимы.

Таким образом, поражение заднего отрезка глаза, чаще всего проявлялось возникновением клеточной реакции СТ, макулярным отеком, окклюдующим ангиитом, папиллитом или ОН, и осложнялось ЧАЗН, ЭРМ, макулярной атрофией.

Особенности клинической картины БУ, протекающего на фоне реактивации ГВИ

Обследовано 106 пациентов с БУ, серопозитивных к ВПГ, ВЭБ, ЦМВ. У 41 из них (38,7%) в СК обнаружены только IgG-антитела к поздним структурным антигенам ВГЧ (хроническая инфекция): 17 с УА, 24 с УР. Маркеры реактивации (в основном ВПГ 1, реже ВПГ 2, ЦМВ) были у 65 пациентов (61,3%): 25 с УА, 40 с УР.

Обнаружена ассоциация активной ВГЧ инфекции с более выраженной степенью клеточной реакции в СТ, функциональными изменениями (МКОЗ < 0.04) - при УА; развитием постувеальных осложнений (ЧАЗН, ЭРФ, атрофическими изменениями МЗ, окклюзиями сосудов) – при УР ($p < 0.05$) (Табл.7, 8).

Таблица 7. Анализ взаимосвязи ВГЧ инфекции с некоторыми клиническими симптомами БУ.

Клинический симптом	Категории	Группы в завис. от активности ВГЧ, глаз (%)				p value
		УА, n=82		УР, n=107		
		1а ВГЧ, n=44	1б ВГЧ, n=38	2а ВГЧ, n=67	2б ВГЧ, n=40	
Клеточная реакция в стекловидном теле	Всего	31 (70.5)	25 (65.8)	3(4.5)	2 (5)	$1-2p=0,006$
	Слабая (1+)	11 (25)	19 (50)	2 (3)	2 (5)	
	Умеренная и выраженная (2+,3+,4+)	20 (45.5) ¹	6(15.8) ²	1 (1.5)	0	
Эпиретинальный фиброз		11	8	13	2	$p_{2a-2б} = 0,041$
Атрофические изменения МЗ По ОКТ	Всего	6 ^{3,5}	1 ⁴	20 ⁶	8	$3-4p=0,057$ $5-6p=0,038$
	1DD	3	1	11	6	
	2DD	3	0	3	2	
	3DD	0	0	4	0	
	4DD	0	0	2	0	
Окклюзия артерий	Отсутствие	25 (55,6)	25 (69,4)	43 (64,2)	27 (67,5)	$p_{1a-2a}=0,027$ $p_{2a-2б} = 0,047$
	1 сектор	16 (35,6)	11 (30,6)	9 (13,4)	13 (32,5)	
	2 сектора	4 (8,9)	0 (0)	3 (4,5)	0 (0)	
	3 сектора	0 (0)	0 (0)	4 (6)	0 (0)	
	4 сектора	0 (0)	0 (0)	8 (11,9)	0 (0)	
Окклюзия вен	Отсутствие	26 (57,8)	25 (69,4)	43 (64,2)	27 (67,5)	0,001 $p_{1a-2a} = 0,027$ $p_{2a-2б} = 0,047$
	1 сектор	17 (37,8)	11 (30,6)	9 (13,4)	13 (32,5)	
	2 сектора	2 (4,4)	0 (0)	3 (4,5)	0 (0)	
	3 сектора	0 (0)	0 (0)	5 (7,7)	0 (0)	
	4 сектора	0 (0)	0 (0)	7 (10,4)	0 (0)	

Примечание: n – число глаз; а – реактивация ВГЧ, б – без реактивации ВГЧ; $p < 0,05$ -различия показателей статистически значимы.

Представленные данные не позволяют исключить, что сохраняющаяся в период клинической ремиссии реактивация ВГЧ, способствует дальнейшему субклиническому развитию постувеальных осложнений (ЧАЗН, ЭРФ, атрофии МЗ, окклюзии сосудов) (Табл. 7, 8).

Таблица 8. Анализ взаимосвязи частичной атрофии зрительного нерва при БУ в зависимости от наличия реактивации ВГЧ.

Атрофия зрительного нерва	Группы БУ в зависимости от реактивации ВГЧ, глаз (%)						
	УА (1а) n=44	1а vs 2а p value	УР (2а) n=67	1а+2а vs 1б+2б*	УА (1б) n=36	1б vs 2б p value	УР (2б) n=40
Отсутствие	26 (56.5)		28 (41.8)		28 (77.8)	p>0.05	22 (55)
1 степень	16 (34.8)		22 (32.8)		6 (16.7)	p>0.05	13 (32.5)
2-4 степень	2 (8.7)	p=0.016	17 (25.4)		2(5.5)	p>0.05	5 (12.5)
Всего (1-4 степени)*	18 (43.5)		39 (58.2)	p=0.02	8 (22.2)		18 (45)

Примечания: а – реактивация ВГЧ, б – без реактивации ВГЧ; p<0,05-различия показателей статистически значимы.

Нетипичные симптомы БУ преобладали у пациентов с маркерами реактивации хронической ГВИ-инфекции (ХГВИ): средние и крупные роговичные преципитаты, «снежные комки и наносы» в СТ встречались у пациентов с серологическими маркерами реактивации ВГЧ в 2 раза чаще, чем у пациентов с ХГВИ (Табл. 9).

Таблица 9. Анализ зависимости нетипичных признаков БУ от активности ВГЧ.

Нетипичный симптом	Число обследованных ВСЕГО n=109 человек (глаз), %	
	Реактивация ВГЧ	Отсутствие реактивации ВГЧ
Выраженная инъекция конъюнктивы	2 (3) 33,3%	4 (4) 66,7%
Средние и крупные преципитаты на эндотелии роговицы	4 (5) 66,7%	2 (2) 33,3%
«Снежные комки и наносы»	8 (10) 66,7%	4 (8) 33,3%

Результаты иммунологических исследований

Особенности системной продукции цитокинов

Анализ системной (97 проб СК) продукции цитокинов у пациентов с ББ с увеитами и без выявил особенности в каждой из групп (Табл. 10).

Таблица 10. Частота выявления и уровни цитокинов в СК пациентов с ББ по сравнению с контролем (КГ)

Цитокины	Болезнь Бехчета, n=116 чел (%); M±m (пг/мл)						4.Контроль (n=34)
	УА, n=41	p	УР, n=64	p	БГП, n=11	p	
IFN-γ	23(56%)	4*=0.002	42(66%)	4=0.030	5(46%)	4<0.05	30(88%)
	4.8±0.5	3**=0.05	6.1±0.73	3=0.003	3.6±0.3	1=0.05	4±1.1

						2=0.003	
IL-1β	6(14.6%)		15(23.4%)		1(9.1%)		6(17.6%)
	4.2 \pm 2.4		1.2 \pm 0.2	4=0.0008			0.3 \pm 0.1
IL-2	10 (24%)	4=0.002	12(18.8%)	4=0.001	2(18.2%)	4=0.012	22(64.7%)
	15 \pm 4.6		8.5 \pm 2		16.8 \pm 4.2		14 \pm 2.2
IL-4	8(19.5%)		22(34%)	4=0.012	1(9.1%)		3(8.8%)
	12.4 \pm 3.6		7.8 \pm 1.1		5.7		9.4 \pm 1.7
IL-5	1(2.4%)		0		1(9.1%)		1(2.6%)
	14.7				11.8		10
IL-6	8(19.5%)	4=0.028	21(32.8%)	4=0.002	1(9.1%)		1(2.8%)
	13.6 \pm 3.3		7.6 \pm 1.7		12.5		0.1
IL-8	9(21.9%)	4=0.011	13(20%)	4=0.013	1(9.1%)		0
	83 \pm 77.2		21.2 \pm 9.4		2.4		
IL-12p70	17(41.5%)		32(50%)		1(9.1%)	4=0.018	19(55.9%)
	3.5 \pm 0.15	4=0.0000	4.2 \pm 0.9	4=0.003	2.8		1.3 \pm 0.2
IL-13	15(36.6%)		25(39%)		3(27%)		16(47%)
	2.4 \pm 0.7		1.9 \pm 0.9		2.1 \pm 1.1		1.8 \pm 0.3
IL-18	28(68%)		44(68.8%)		9(81.8%)		22(64.7%)
	9.4 \pm 1.9	4=0.03	14.9 \pm 2.6	4=0.0005 3=0.01	6.5 \pm 1.8		4 \pm 1.5
TNF-α	13(31.7%)	4=0.001	24(37.5%)	4=0.001	3(27.3%)	4=0.005	27(79.4%)
	2.8 \pm 0.5		2.9 \pm 0.5		7 \pm 6.2		3 \pm 0.8
MCP-1	41(100%)		64 (100%)		11 (100%)		34 (100%)
	77 \pm 8.2	4=0.0001 3=0.001	96.4 \pm 14.4	4=0.0002 3=0.002	35.5 \pm 5.9	4=0.00001	144 \pm 14.5
Eotaxin	41(100%)		64 (100%)		11(100%)		34 (100%)
	60.6 \pm 6.8	4=0.0004	67.6 \pm 4.9	4=0.0001 3=0.003	42.6 \pm 6.4	4=0.00001	168.3 \pm 20.6
GRO-α	25(61%)	4=0.001	32(50%)	4=0.001	5(45.5%)	4=0.047	4(11.8%)
	29.2 \pm 12.7		21.6 \pm 6.5	3=0.038	7.4 \pm 1.1		16.6 \pm 8
IP-10	41(100%)		64 (100%)		11(100%)		34(100%)
	51.8 \pm 18.8	3=0.042	38.6 \pm 6.7	3=0.0003	12.5 \pm 1.2	4=0.01	24 \pm 4.2
MIP-1α	29(70.7%)	4=0.008	40(62.5%)	4=0.001	4(36.4%)	4=0.001	33(97%)
	12.1 \pm 2.1	4=0.039 3=0.0001	12.2 \pm 2	4=0.036 3=0.001	2.2 \pm 0.7	4<0.05	20 \pm 3.1
MIP-1β	40(97.6%)		62(96.9%)		11(100%)		33(97%)
	85.6 \pm 12.6	4=0.0000 3=0.0000	96 \pm 11.3	4=0.0000 3=0.0000	42.1 \pm 8.5	4=0.0000	206 \pm 15
RANTES	41(100%)		64(100%)		11(100%)		34(100%)
	61.3 \pm 5.2	4=0.0036	73 \pm 5.2	4=0.026 3=0.002	45.4 \pm 7	4=0.0004	108.2 \pm 14/7
SDF-1α	41(100%)		64(100%)		11(100%)		33(97%)
	428.4 \pm 19.3	4=0.0016 3=0.0003	479.9 \pm 26.5	4=0.0001 3=0.0001	301.4 \pm 20		286 \pm 39
GM-CSF	5(12.2%)	4=0.019	6(9.4%)	4=0.002	0	4=0.041	13(38.2%)
	22.8 \pm 5.3		19.5 \pm 3.3				20 \pm 12
	26(100%)		48(100%)		1/1(100%)		12(100%)

TGF-β1	34520 \pm 3208	4=0.0002	26603 \pm 2114	4=0.009	46541		17481 \pm 2617
TGF-β2	15(100%) 5177 \pm 807		61(97%) 5175 \pm 502	3=0.045	5/7 (71%) 2120 \pm 1405		22(100%) 4401 \pm 1002

Примечание: $p < 0.05$ -статистически значимое различие; n – количество человек; *- номер группы с достоверными различиями в частоте выявления цитокина, ** - в концентрации цитокина.

В тест-пробах **всех больных ББ** по сравнению с контролем, достоверно чаще обнаруживался ангиогенный хемокин GRO- α ; при этом концентрации MCP-1, Eotaxin, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , обладающих провоспалительными и ангиогенными свойствами, были снижены.

У пациентов с увеитами чаще выявляли провоспалительные IL-6, IL-8. При УР, в отличие от КГ, чаще определяли противовоспалительный цитокин IL-4, и повышение уровня провоспалительного IL-1 β ($p < 0.05$). В СК пациентов БГП снижалась концентрация IP-10 и частота обнаружения IL-12p70, по сравнению с таковыми в КГ ($p < 0.05$).

Сравнительный анализ системной продукции цитокинов в крови больных БУ и БГП показал увеличение содержания IFN- γ , MCP-1, IP-10, MIP-1 α , SDF-1 α , TGF- β 1 в СК пациентов с УА, и подключение синтеза еще 5 медиаторов при УР: IL-18, Eotaxin, GRO- α , RANTES, TGF- β 2, что явилось доказательством прямого участия указанных цитокинов в патогенезе БУ.

Особенности локальной продукции цитокинов

Большинство исследованных цитокинов (интерлейкины, IFN- γ , TNF- α), за исключением IL-8, IL-2, выявляли редко, чаще обнаруживали хемокины.

Значимые изменения касались IL-8, уровень которого повышался при УР (21,5 пг/мл; $p = 0,024$) по сравнению с БГП, и снижался при УА (5,4 пг/мл; $p = 0,028$) по сравнению с УР; и GM-CSF, уровни которого в группах БУ были ниже КГ ($p = 0.031$).

Профили иммуномедиаторов на фоне реактивации ГВИ

Анализ содержания цитокинов в СК у пациентов с ББ в зависимости от течения ГВИ (n=116 человек) позволил выделить характерные профили в группах БУ, свидетельствующие об усилении продукции медиаторов адаптивного иммунного ответа, хемокинов и регуляторных факторов: IFN- γ , MIP-1 α /CCL3, RANTES/CCL5, TGF- β 1, TGF- β 2. Следует особо отметить, что продукция указанных цитокинов сохранялась и в период клинической ремиссии, однако группу пациентов с УР на фоне реактивации ГВИ отличал более широкий спектр иммуномедиаторов,

изменившийся главным образом за счет присоединения провоспалительных медиаторов (Табл. 11), в частности, GRO- α – нейтрофильного хемоаттрактанта, фактора патологической активации и поражения стенки сосудов, синтез которого, как известно, индуцируется инфекционными агентами. Не исключено, что на фоне длительной иммуносупрессии и активации инфекции при УР, повышение продукции данного фактора может быть ассоциировано с прогрессированием сосудистых изменений.

Достоверного влияния ГВИ на локальную продукцию IL8, GM-CSF мы не выявили, однако тенденция к повышению уровней всех иммуномедиаторов оказалась более выраженной в подгруппах на фоне реактивации.

Таблица 11. Концентрации цитокинов и хемокинов (пг/мл) в сыворотке крови пациентов УА и УР в сравнении с группой БГП в зависимости от активности ВГЧ.

Концентрация цитокинов в сыворотке	Реактивация хронической ВГЧ-инфекции		Хроническая ВГЧ-инфекция	
	УА	УР	УА	УР
Повышены* *-p <0.05	IFN- γ	IFN- γ	SDF-1 α /CXCL12	MCP-1/CCL2
	MCP-1/CCL2	MCP-1/CCL2		IP-10/CXCL10
	MIP-1 α /CCL3	MIP-1 α /CCL3		MIP-1 β /CCL4
	MIP-1 β /CCL4	MIP-1 β /CCL4		SDF-1 α /CXCL12
	RANTES/CCL5	RANTES/CCL5		
	IP-10/CXCL10	IP-10 /CXCL10		
	SDF-1 α /CXCL12	SDF-1 α /CXCL12		
	TGF- β 1	TGF- β 1		
	TGF- β 2	TGF- β 2		
		GRO- α /CXCL1		
		Eotaxin/CCL11		
	IL-18			
Снижены	нет	нет	нет	нет

Особенности состава лимфоцитов и его изменения при активации ГВИ

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови исследован у 77 пациентов с БУ и 8 человек БГП. Выявлены однонаправленные изменения в клеточном звене иммунитета, ассоциированные с БУ, что свидетельствует об общей патогенетической основе; но у каждой группы был характерный профиль (Табл. 12)

Группа УА отличалась наиболее высоким содержанием общего количества лимфоцитов CD45⁺ и абсолютным числом Т-клеток (CD3⁺) с увеличением содержания субпопуляции CD3⁺CD8⁺. В крови пациентов БГП выявлено наибольшее снижение как относительного, так и абсолютного количества НК-клеток, что позволило выделить данную группу.

Таблица 12. Субпопуляционный состав лимфоцитов у больных ББ (M±m)

Показатель		КГ (n=50)	Группы ББ		
			БГП (n=8)	УР (n=51)	УА (n=26)
Лимфоциты CD45+	х10 ⁹ /л	2,06±0,11	1,84±0,102	1,9±0,013	2,24±0,018#~
Т-лимфоциты общая популяция CD3+	%	73,1±0,87	80±2*	77±1,2*	76±1,3
	х10 ⁹ /л	1,51±0,08	1,4±0,094	1,46±0,01	1,724±0,015* #~
Т-хелперы CD3+CD4+	%	45,7±1,19	45±2	40±1,3*#	40±2*
	х10 ⁹ /л	0,97±0,06	0,83±0,054	0,78±0,065*	0,93±0,09
Т-цитотоксические CD3+CD8+	%	25,6±1,04	32±3*	32,5±1*	33±2*
	х10 ⁹ /л	0,52±0,03	0,58±0,07	0,61±0,046	0,704±0,055*
Т-«дубль- позитивные» лимфоциты CD3+CD4+CD8+	%	0,54±0,31	1,6±0,6	0,95±0,1	1±0,1
	х10 ⁹ /л	0,009±0,007	0,030±0,011	0,019±0,003	0,021±0,003
Натуральные киллеры CD16+CD56+	%	14±0,87	8,7±1*	12±1#	11±1*
	х10 ⁹ /л	0,29±0,03	0,16±0,022*	0,214±0,018*	0,221±0,023
В-лимфоциты CD19+	%	12,8±0,63	11±2	10±0,7*	11±0,8
	х10 ⁹ /л	0,24±0,02	0,204±0,047	0,207±0,02	0,28±0,034~
CD4+/CD8+	рассч. ед	1,95±0,12	1,7±0,2	1,3±0,07*	1,4±0,1*

Примечание: n – количество обследуемых лиц в группе; * - достоверность различия параметров между ББ и КГ (p< 0.05), # - между БУ и БГП, ~ - между УР и УА (p<0,05).

В ходе анализа субпопуляционного состава лимфоцитов в зависимости от наличия активной ГВИ выявлено отсутствие адекватных «рабочих» сдвигов в звене Т-клеток при БУ и реактивации ВГЧ, повышение абсолютного числа НК-лимфоцитов при УА, снижение содержания В-лимфоцитов при УР, и сдвиги в гуморальном (В-лф) и клеточном звене (Т-лф) при БГП (Табл. 13).

Таблица 13. Значимые сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов в крови пациентов БУ на фоне реактивации ВГЧ по сравнению с таковыми без реактивации

Группа с реактивацией ВГЧ	Изменение параметра, Абс.кол-во (p<0.05)
БГП-р	↓ CD3+CD8+, CD3+CD4+CD8+, CD19+
УА-р	↑ CD16+CD56+
УСА-р	↑ CD19+
УР-р	↓ CD19+, ↓ ИРИ
УА-р+УСА-р	↑ CD16+CD56+
БУ-р	↓ ИРИ
ББ-р	↓ CD19+, ↓ ИРИ

Примечание: БГП-р – группа без глазных проявлений с реактивацией ВГЧ, ИРИ – иммунорегуляторный индекс, БУ – УА+УСА+УР, ББ – УА+УСА+УР+БГП.

Результаты анализа свидетельствуют о снижении противовирусной защиты (отсутствие изменений со стороны Т-лф, снижение содержания В-лф) в группе БУ в целом и при УР в частности, что может быть связано как с принимаемой на момент обследования терапией, так и с модулирующим действием вируса.

Анализ экспрессии TLRs клетками гранулоцитарно-моноцитарного ряда, в том числе в зависимости от характера течения ГВИ

Анализ экспрессии 4 типов Толл-подобных рецепторов в группах ББ (85 чел) выявил дисбаланс клеток неспецифического звена иммунитета: доминирование относительного количества гранулоцитов, тенденция к снижению показателей экспрессии TLR 2, 4, 5, 9 моноцитами и гранулоцитами периферической крови у пациентов с БУ, что указывает на ослабление системы защиты и, возможно, ее эффективности в противовирусном ответе (Табл. 14). Представленные сдвиги в составе и функциональной активности лейкоцитов согласуются с нашими данными при исследовании динамики цитокинов.

Таблица 14. Значимые изменения в составе клеток крови гранулоцитарно-моноцитарного ряда и экспрессии TLRs при ББ

Показатели	Группа	M ± SD / Me	95% ДИ / Q1 – Q3	n	p
Моноциты (%)	ББ	4,90 ± 1,93	4,39 – 5,41	58	0,027*
	КГ	5,75 ± 0,73	5,14 – 6,36	8	
Mean monTLR5	ББ	380,00	335,00 – 444,25	58	0,049*
	КГ	496,50	433,00 – 521,50	8	
monTLR2+9+ (%)	ББ	4,67 ± 2,26	4,07 – 5,26	58	0,051**
	КГ	6,30 ± 1,26	5,24 – 7,36	8	
Гранулоциты (%)	ББ	62,08 ± 14,61	58,74 – 65,42	76	0,011*
	КГ	48,03 ± 13,06	37,11 – 58,94	8	
granTLR4-5- (%)	ББ	21,52 ± 12,12	18,75 – 24,29	76	0,021*
	КГ	11,20 ± 7,77	4,70 – 17,70	8	
Mean granTLR5	ББ	1382,68 ± 239,78	1327,89 – 1437,48	76	< 0,001*
	КГ	1735,00 ± 315,55	1471,19 – 1998,81	8	
granTLR2+9+ (%)	ББ	42,26 ± 21,05	37,48 – 47,04	77	0,098**
	КГ	29,52 ± 13,12	18,56 – 40,49	8	
Mean granTLR9	ББ	6131,00	5552,00 – 6649,00	77	0,026*
	КГ	7570,00	6648,75 – 7784,50	8	

Примечание: n – количество человек; * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05); ** - тенденция; Mean – интенсивность флуоресценции на моноцитах/гранулоцитах.

Сравнительный анализ экспрессии TLRs клетками гранулоцитарно-моноцитарного звена проведен 71 пациенту с ББ в группах с реактивацией ВГЧ и без (Табл. 15). При УА с реактивацией ВГЧ отмечено повышение относительного количества моноцитов, доли моноцитов, экспрессирующих TLR4+, TLR2+9+, хотя процентное содержание гранулоцитов, экспрессирующих TLR5, оказалось сниженным. В группе УР с реактивацией ВГЧ отмечено достоверное повышение относительного числа клеток гранулоцитарного ряда (p=0.03), тенденция к повышению клеток моноцитарного ряда (p=0.066); значимое снижение процента TLR2+9+-моноцитов (p=0.047), и тенденция к снижению TLR2+9+-гранулоцитов.

Таблица 15. Параметры экспрессии TLRs в группах с реактивацией ВГЧ

Группа с реактивацией ВГЧ	Изменение параметра по сравнению с группой без реактивации ($p < 0.05$)	
	На моноцитах	На гранулоцитах
БГП-р	нет отличий	
УА-р	↑ %Mono ↑ %monTLR4+ ↑ %monTLR2+9+ ** -тенденция к ↑ %monTLR4-5-	↓ %granTLR5+ ** -тенденция к ↓ %granTLR2+ ** -тенденция к ↓ %granTLR2-9- ** -тенденция к ↓ %granTLR9+ ** -тенденция к ↑ Mean TLR9
УР-р	↓ %monTLR2+9+ ** -тенденция к ↓ %Mono ** -тенденция к ↓ Mean TLR9	↑ %Gran ** -тенденция к ↓ %granTLR2+9+ ** -тенденция к ↓ Mean TLR9
БУ-р	нет отличий	↓ Mean TLR5 ** -тенденция к ↓ %granTLR4-5-
ББ-р	нет отличий	** -тенденция к ↑ %granTLR4-5- ** -тенденция к ↓ Mean TLR5

Примечание: БГП-р – подгруппа с реактивацией ВГЧ; %monTLR4+ - % экспрессии TLR4 на моноцитах; %granTLR4+ - % экспрессии TLR4 на гранулоцитах; БУ: УА+УР; ББ: УА+УР+БГП.

Выявленное повышение относительного количества гранулоцитов согласуется с представлениями о ББ, как о процессе, для которого характерна нейтрофильная инфильтрация. Повышение процента гранулоцитов, ко-экспрессирующих TLR2+9+, согласуется с данными исследователей, отмечающих гиперэкспрессию разных типов TLRs [Xiaoli L., 2013].

Обращает на себя внимание тенденция к дальнейшему снижению относительного числа моноцитов при УР, среди которых достоверно снижается доля клеток, обладающих противовирусной защитой (TLR2+9+), и повышается процент гранулоцитов с ослаблением экспрессии TLR2+9+. В группе УА, напротив, наблюдается повышение относительного количества моноцитов с увеличением долей TLR4+- и TLR2+9+-клеток.

Таким образом, характер течения БУ ассоциирован с достоверными изменениями в составе и функциональной активности лейкоцитов периферической крови, системной продукции про- и противовоспалительных медиаторов.

Иммунологические параметры риска развития увеита при ББ

На основании ранее определенного нами системного профиля цитокинов, статистически значимо отличающего группу с увеитами (УА, УР) от группы БГП, проведена оценка их диагностической значимости в СК с помощью анализа ROC-кривых, в ходе которого обнаружено, что статистически достоверные показатели площади под кривой (AUC) касались 5 цитокинов: IL-1 β , IL-8, GRO- α , MCP-1, SDF-1 α , а наиболее высокая площадь под кривой выявлена для IL-8 (Рис. 2).

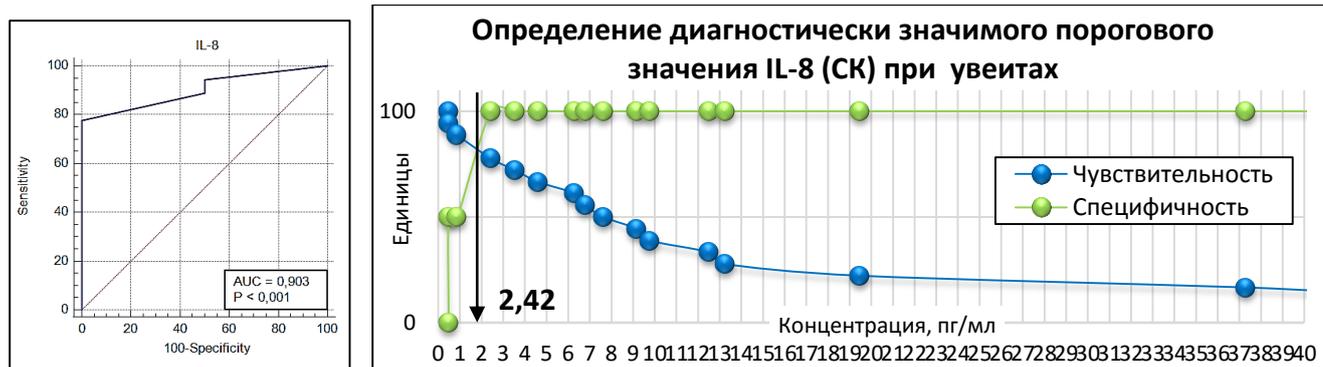


Рисунок 2. ROC-анализ предиктивной силы определения IL-8 в СК пациентов с БУ (слева); вычисление порогового значения IL-8 в СК пациентов с БУ (справа)

В ходе комплексного клинико-иммунологического анализа определена особая роль реактивации ГВИ, оказывающей влияние на клиническое течение и иммунологические параметры пациентов с увеитами при ББ (Табл. 16).

Таблица 16. Результаты комплексного анализа влияния реактивации ВГЧ на течение БУ.

Влияние инфекционного фактора	УА с реактивацией ВГЧ (p<0.05)	УР с реактивацией ВГЧ (p<0.05)
Клиническая картина	Более выраженная степень клеточной реакции в СТ, функциональные изменения (МКОЗ < 0.04)	Более частое развитие постувеальных осложнений: ЧАЗН, ЭРФ, атрофия МЗ, сосудистые окклюзии.
Системная продукция цитокинов	↑ IFN-γ, MCP-1, IP-10, MIP-1α, SDF-1α, TGF-β1	↑ IFN-γ, MCP-1, IP-10, MIP-1α, SDF-1α, TGF-β1, IL-18, Eotaxin, GRO-α,
Субпопуляционный состав лимфоцитов	↑ CD16+CD56+ (NK- клетки), отсутствие сдвигов в Т-звене	↓ CD 19+ (В-лф), ↓ ИРИ, отсутствие сдвигов в Т-звене
Толл-подобные рецепторы	↑ % моноцитов, ↑ доли TLR4+ -моноцитов, ↑ доли TLR2+9+ -моноцитов, ↓ доли TLR5+ -гранулоцитов	↑ % гранулоцитов, ↓ доли TLR2+9+ -моноцитов

Сравнительный анализ серологических параметров, состава и функциональной активности лейкоцитов (гранулоцитов и моноцитов) выявил качественные отличия между группами с увеитами и без поражения глаз. В частности, показаны гиперпродукция цитокинов, в основном хемокинового ряда, в группах с увеитами; функциональная недостаточность (снижение экспрессии TLR2, TLR5 и TLR9) и дисбаланс (доминирование относительного количества гранулоцитов) в неспецифическом звене иммунной защиты, возможно способствующие длительной активности герпесвирусной инфекции.

Выводы

1. В ходе клинико-эпидемиологического анализа установлен возрастной и гендерный состав когорты пациентов с ББ, проживающих на территории Российской Федерации (по данным обращаемости в НМИЦ ГБ им. Гельмгольца), в 51% представленный национальностями республик Северного Кавказа и стран Закавказья и в 31 % славянами (русскими), без значимых отличий в частоте глазных проявлений между ними; длительность увеита (от 6 до 8 лет) коррелировала с продолжительностью основного заболевания (ББ) во всех исследуемых группах; в 27,7 % глаз при первичном осмотре выявлены слепота и слабовидение.

2. Картина БУ в большинстве случаев (68%) характеризовалась двухсторонним, негранулематозным, рецидивирующим панувеитом с ретиноваскулитом (69,7%), однако примерно в 10 % глаз ассоциировалась с нетипичными клиническими проявлениями в переднем отрезке глаза и стекловидном теле.

3. У 60% пациентов с БУ выявлены серологические признаки реактивации хронической ГВИ, установлены статистически значимые взаимосвязи реактивации хронической ГВИ с рядом клинических симптомов БУ, в частности:

- выявленными нетипичными симптомами БУ (средними и крупными преципитатами на эндотелии роговицы; выраженной клеточной реакцией в СТ, «снежными комками и наносами»);

- с более выраженной клеточной реакцией в стекловидном теле ($p=0.006$) и чаще выявляемыми функциональными изменениями (снижение МКОЗ) среди пациентов с УА ($p<0.05$);

- тяжелыми постувеальными осложнениями при УР – ЧАЗН, эпиретинальным фиброзом, атрофическими изменениями макулярной зоны, сосудистыми окклюзиями (занимающими большую площадь глазного дна) ($p<0,05$).

4. Характер течения БУ ассоциирован с достоверными сдвигами в составе и функциональной активности лейкоцитов периферической крови, системной продукции про- и противовоспалительных иммуномедиаторов, в частности:

- увеличением числа общих Т-лимфоцитов в крови, снижением натуральных киллеров по сравнению с нормой, дисбалансом клеток гранулоцитарно-моноцитарного ряда с тенденцией к доминированию гранулоцитов и ослаблением экспрессии рецепторов TLR2, TLR9 (участвующих преимущественно в противовирусной защите) на поверхности и в цитоплазме моноцитов.

- повышением уровня широкого профиля цитокинов СК в группе пациентов с ББ, протекающей с вовлечением глаз, по сравнению с группой БПП: IFN- γ , MCP-1, IP-10, MIP-1 α , SDF-1 α , TGF- β 1 – в группе с активным увеитом, и дополнительно к ним IL-18, Eotaxin, GRO- α , RANTES, TGF- β 2 – в группе с увеитом в ремиссии.

4. Увеиты, ассоциирующиеся с реактивацией системной ГВИ, протекают на фоне недостаточности противовирусного ответа, определяемой достоверным усилением дисбаланса в гранулоцитарно-моноцитарном звене и сохранением высокой системной продукции иммуномедиаторов, качественно отличающих группу пациентов с УР, в СК которых помимо повышения уровней цитокинов IFN- γ , IL-8, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, IP-10, SDF-1 α , TGF- β 1, TGF- β 2 (характерного и для группы с УА), дополнительно увеличивалось содержание GRO- α , Eotaxin и IL-18.

5. На основании сравнения групп пациентов с ББ, протекающих с увеитом и без, в ходе последующего ROC-анализа выявлен иммунопатогенетический предиктор развития БУ: повышение уровня IL-8 (хемоаттрактанта нейтрофильных гранулоцитов, патологического активатора эндотелия сосудистой стенки) в СК пациентов с ББ выше 2,4 пг/мл (AUC=0.903, $p < 0.001$) прогнозирует высокий риск вовлечения глаза.

Практические рекомендации

1. Предложены информативные параметры изменений в иммунологическом статусе пациентов с увеитами при ББ (недостаточность противовирусного ответа на фоне реактивации ГВИ, определяемой достоверным усилением дисбаланса в гранулоцитарно-моноцитарном звене и сохранением высокой системной продукции иммуномедиаторов, отличающих группу пациентов с УР), расширяющие возможности иммунологического мониторинга при ведении пациентов в офтальмологической клинике.

2. Проведение лабораторных исследований с целью определения маркеров реактивации ГВИ целесообразно включать в комплексное обследование пациентов с увеитами при ББ (в том числе с нетипичной клинической симптоматикой) для решения вопроса о проведении противовирусной терапии.

3. Определение концентрации IL-8/CXCL-8 в СК выше 2,4 пг/мл при БУ характеризует этот иммуномедиатор как перспективный лабораторный биомаркер вовлечения глаз при ББ, который может быть использован в ревматологической клинике при мониторинге заболевания.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кричевская, Г.И. Клиническая значимость серологических маркеров реактивации герпесвирусов у пациентов с увеитами, ассоциированными с болезнью Бехчета / Г.И. Кричевская, *Е.С. Сорожкина*, Н.В. Балацкая [и др.] // **Материалы VII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2021)**. Сборник тезисов. Москва. – 2021. С. 24.
2. Нероев, В.В. Изменения в популяционном составе лимфоцитов крови при глазных проявлениях болезни Бехчета / В.В. Нероев, *Е.С. Сорожкина*, Н.В. Балацкая [и др.] // **Имунопатология, аллергология, инфектология**. – 2019. – № 3. – С. 17-24.
3. Нероев, В.В. Клинические особенности увеита при болезни Бехчета у пациентов с реактивацией герпесвирусных инфекций / В.В. Нероев, *Е.С. Сорожкина*, Г.И. Кричевская [и др.] // **Российский офтальмологический журнал**. – 2022. № 4.
4. *Сорожкина, Е.С.* Ведущие иммуномедиаторы при глазных проявлениях болезни Бехчета / Е.С. Сорожкина, Н.В. Балацкая, И.Г. Куликова [и др.] // **Российский общенациональный офтальмологический форум**. -2021. -Т. 2. -С. 539-543.
5. *Сорожкина, Е.С.* Изменение системного цитокинового профиля у пациентов с болезнью Бехчета и увеитами на фоне реактивации хронических герпесвирусных инфекций / Е.С. Сорожкина, Г.И. Кричевская, Н.В. Балацкая [и др.] // **Проблемы медицинской микологии**. -2021. -Т. 23. № 2.-С. 142.
6. *Сорожкина, Е.С.* Особенности сдвигов состава лимфоцитов крови при глазных проявлениях болезни Бехчета / Е.С. Сорожкина, Н.В. Балацкая, Г.А. Давыдова // **Российский общенациональный офтальмологический форум**. – 2019. –Т. 1. –С. 266-269.
7. *Сорожкина, Е.С.* Особенности системной продукции цитокинов при болезни Бехчета, протекающей в ассоциации с увеитом и без глазных поражений / Е.С. Сорожкина, Г.И. Кричевская, Н.В. Балацкая [и др.] // **Медицинская иммунология**. -2021. -Т. 23. № 5. -С. 1079-1088.
8. *Сорожкина, Е.С.* Особенности хемокинового профиля при глазных манифестациях болезни Бехчета / Е.С. Сорожкина, Н.В. Балацкая, Г.А. Давыдова, Т.А. Лисицына // **Российский общенациональный офтальмологический форум**. – 2018. –Т. 2. –С. 510-512.
9. *Сорожкина, Е.С.* Скрининг цитокинов в сыворотке крови больных с поражением глаз при болезни Бехчета / Е.С. Сорожкина, Н.В. Балацкая, Г.А. Давыдова [и др.] // **Медицинская иммунология**. -2017. -Т. 19. № 5. С. 321.
10. *Сорожкина Е.С.* Содержание хемокинов в сыворотке крови больных с офтальмопатологией при болезни Бехчета / Е.С. Сорожкина, Н.В. Балацкая, Г.А. Давыдова, Т.А. Лисицына // **Российский общенациональный офтальмологический форум**. – 2017. –Т. 2. –С. 551-554.
11. Krichevskaya G.I., Effect of human herpes virus reactivation on systemic cytokine production in patients with Behcet's disease and uveitis / G.I. Krichevskaya, *E.S. Sorozhkina*, N.V. Balatskaya [et al.] // **Medical Immunology (Russia)**. 2021. Т. 23. № 4. С. 767-774.

Список сокращений

ББ – болезнь Бехчета	СК – сыворотка крови
БУ – увеит при болезни Бехчета	СТ – стекловидное тело
ВГЧ – вирусы герпеса человека	Т-лф – Т лимфоциты
В-лф – В лимфоциты	Тх (Th)– Т хелперы
ВПГ – вирус простого герпеса	Тц (Тс) – Т цитотоксические клетки
ВЭБ – вирус Эпштейн-Барр	УА – увеит активный
ГВИ – герпесвирусная инфекция	УР – увеит в ремиссии
ГКС – глюкокортикостероиды	УР – увеит в ремиссии
ДЗН – диск зрительного нерва	УСА – увеит субактивный
ЗН – зрительный нерв	ХВГЧИ – хроническая ВГЧ-инфекция
ИФА – иммуноферментный анализ	ЦМВ – цитомегаловирус
МЗ – макулярная зона	ЧАЗН – частичная атрофия зрительного нерва
НК (NK) – натуральные киллеры	IgG – иммуноглобулин G
ОКТ – оптическая когерентная томография	IgM – иммуноглобулин M
ОН – оптическая нейропатия	TLRs – Толл-подобные рецепторы (Toll-like рецепторы)
СЖ – слезная жидкость	