

Doi: 10.52341/20738080_2025_139_6_91

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *DEFB1*, *IL6* И *IL17F* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ



АХМАД ЭЛЬ-АБЕД С.Д., аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», sdsam177@yandex.ru



ГАВРИЛОВА Т.В., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика

Е.А. Вагнера» Минздрава России, лауреат премии Правительства Российской Федерации в области образования, gavriloa.tv@mail.ru



ЧЕРЕШНЕВА М.В., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, mcherezhneva@mail.ru



СВИТИЧ О.А., академик РАН, д.м.н., профессор РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика

А.А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), svitichoa@yandex.ru

Исследование посвящено изучению экспрессионного профиля генов *DEFB1*, *IL6* и *IL17F* в периферической крови пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, экспрессия генов, *DEFB1*, *IL6*, *IL17F*, врождённый иммунитет, стадии заболевания.

EXPRESSION OF *DEFB1*, *IL6* AND *IL17F* GENES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF THE PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Akhmad El-Abed S., Gavrilo T., Cherezhneva M., Svitich O.

The article is dedicated to the study of *DEFB1*, *IL6* and *IL17F* genes' expressive profile in the peripheral blood of the patients with primary open-angle glaucoma.

Key words: primary open-angle glaucoma, gene expression, *DEFB1*, *IL6*, *IL17F*, innate immunity, stages of the diseases.

Введение

Глаукома – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание глаз, характеризующееся повышенным внутриглазным давлением (ВГД), повреждением зрительного нерва и уменьшением периферического зрения. Глаукома является одной из ведущих причин необратимой слепоты в мире и чаще всего проявляется у взрослых людей старше 40 лет. При этом распространённость заболевания увеличивается с возрастом. Патогенез заболевания сложен, многофакторен и включает в себя нарушение оттока внутриглазной жидкости, хроническое воспаление и нейродегенеративные процессы. Прогрессирующая потеря зрительных функций существенно снижает качество жизни пациентов, особенно при поздней диагностике и недостаточном лечении [2, 3].

В развитии первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) участвует множество генетических и иммунологических факторов. С точки зрения иммунологии, ПОУГ характеризуется активацией глиальных клеток, системы комплимента, сигнальных путей NF-κB-, TNF-α- и TOLL-подобных рецепторов, которые участвуют в модуляции воспаления и апоптоза ретинальных ганглиозных клеток [10].

В последние годы внимание исследователей всё чаще сосредоточено на изучении роли антимикробных пептидов (АМП), в частности, β-дефензинов в патогенезе офтальмологических заболеваний. Дефензины представляют собой небольшие катионные пептиды с широким спектром противомикробной активности, включая противовирусное, противогрибковое и антибактериальное действия [4]. В организме человека выделяют дефензины α и β, при этом

β -дефензины синтезируются эпителиальными клетками слизистых оболочек, включая конъюнктиву глаза [1, 5]. Среди них HBD1 экспрессируется конститутивно, выполняя защитную функцию, тогда как HBD2 и HBD3 индуцируются в ответ на воспалительные и инфекционные факторы. Ряд исследований демонстрирует значимость в поддержании гомеостаза глазных тканей β -дефензинов и, следовательно, их возможное участие в воспалительных и дегенеративных процессах при глаукоме. Так, было показано, что экспрессия *DEFB1* (гена, кодирующего HBD1) изменяется при различных состояниях глазной поверхности и ВГД [6].

На сегодняшний день интерлейкин-6 (*IL6*) все больше привлекает внимание исследователей благодаря своей роли в патогенезе различных глазных заболеваний, включая ПОУГ. Имеется ряд данных о повышенной экспрессии *IL6* при различных глазных заболеваниях. Например, уровень этого цитокина значительно увеличен при эндофтальмите [7]. Также в исследованиях показано, что уровень *IL6* в слезной жидкости повышается при синдроме сухого глаза, офтальмологической трансплантации и других нарушениях роговицы и конъюнктивы [8]. Повышение уровня *IL6* при ПОУГ ассоциируется с прогрессированием заболевания и ухудшением результатов хирургического лечения [9].

Помимо *IL6* значительный интерес представляет интерлейкин-17 (*IL17*), который также играет важную роль в воспалительных процессах и иммунном ответе при глазной патологии. Согласно научным данным, у пациентов с синдромом Шегрена повышено содержание *IL17* в слезной жидкости и в крови, что демонстрирует системное участие этого цитокина в воспалительном процессе [12].

Цель исследования

Изучить экспрессионный профиль генов *DEFB1*, *IL6* и *IL17F* в периферической крови пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Материалы и методы

Для исследования была взята периферическая кровь у 291 жителя Пермского края. Из них сформировали три группы: основную, сравнения и контрольную.

В 1-ю (основную) группу были включены лица с ПОУГ различных стадий ($n=134$). Во 2-ю (сравнения) – пациенты с возрастной катарактой различной степени зрелости, при этом признаки глаукомы у них отсутствовали ($n=101$). Больные этих групп проходили лечение в отделениях глаукомы и микрохирургии глаза ГБУЗ Пермского края «Ордена “Знак

Почёта” Пермская краевая клиническая больница» (ПККБ). В 3-ю группу (контроля) вошли условно здоровые лица – сотрудники Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера (ПГМУ) и офтальмологических отделений ПККБ, не имеющие глазной патологии ($n=56$).

В 1-й группе мужчин было 70 (52%), женщин – 64 (48%), по возрасту распределение следующее: 40–45 лет – 1 чел. (1%), 46–55 лет – 2 чел. (1%), 56–65 лет – 21 чел. (16%), 66–75 лет – 79 чел. (59%), 76–85 лет – 31 чел. (23%). Средний возраст – $70,7 \pm 7,1$ года. Сопутствующими соматическими заболеваниями страдали 67 пациентов (50%): сахарным диабетом (СД) – 6 (4%), гипертонической болезнью (ГБ) – 61 (46%).

Во 2-й группе: мужчин – 48 (48%), женщин – 53 (52%). По возрасту распределение следующее: 40–45 лет – 1 чел. (1%), 46–55 лет – 3 чел. (3%), 56–65 лет – 30 чел. (30%), 66–75 лет – 46 чел. (45%), 76–85 лет – 21 чел. (21%). Средний возраст – $68,5 \pm 8,0$ года. Сопутствующими соматическими заболеваниями страдали 66 пациентов (65%): СД – 11 чел. (11%), ГБ – 45 чел. (45%).

В 3-й группе: мужчин – 8 (14%), женщин – 48 (86%). По возрасту распределение следующее: 40–45 лет – 15 чел. (27%), 46–55 лет – 24 чел. (43%), 56–65 лет – 16 чел. (28%), 66–75 лет – 1 чел. (2%). Средний возраст – $51,6 \pm 9,2$ года. Сопутствующие соматические заболевания – у 11 больных (20%): СД – у 2 чел. (4%), ГБ – у 9 чел. (16%).

Средний возраст исследуемых в контрольной группе – несколько ниже, чем в других группах. Условно здоровую группу лиц, близкую по возрасту группам с глаукомой и катарактой (группа сравнения), подобрать не представлялось возможным, так как с возрастом у людей появляются признаки помутнения хрусталика (начальная катаракта).

Перед началом исследования всем участникам была предоставлена полная информация о его целях и методах, после чего они подписали информированное добровольное согласие на участие.

К исключающим признакам относились: беременность, лактация, выраженные соматические, аутоиммунные, иммунологические, психоневрологические заболевания, хирургические вмешательства в недавнем анамнезе, злоупотребление лекарствами или алкоголем, а также несоблюдение условий протокола.

Чтобы оценить изменения в уровне экспрессии генов, использовался метод выделения м-РНК набором реагентов Рибо-Сорб (Amplisense, Россия). Затем применялся метод реакции обратной транскрипции (ОТ) на-

бором ОТ-1. Далее проводилась полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени (ПЦР-РВ) набором реагентов SYBR-Green I (Синтол, Россия), а также с помощью специально синтезированных праймеров (Синтол, Россия).

Первым этапом реакции было прохождение 1-го цикла (5 мин.) при температуре 95°C. На втором этапе проходили 40 циклов по 15 сек. при температуре 95°C и по 50 сек. при температуре 60°C.

Нормализация результатов количественной ПЦР-РВ осуществлялась по уровню экспрессии гена β-актина.

Количественный анализ экспрессии генов проводился с использованием метода относительной количественной оценки – метод 2-ΔΔC(t) [11].

Статистическая значимость между группами данных определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

Дополнительно анализировались уровни экспрессии исследуемых факторов на разных стадиях ПОУГ (I–IV стадии), что позволило оценить возможную динамику изменений в зависимости от степени тяжести заболевания.

Результаты и обсуждение

Для оценки роли иммуногенетических маркеров в патогенезе ПОУГ был проведён анализ экспрессии генов *DEFB1*, *IL6* и *IL17F* в периферической крови пациентов с ПОУГ, пациентов с катарактой и у условно здоровых лиц. На первом этапе исследования (рис. 1) была проанализирована экспрессия гена *DEFB1*. Отмечено, что, по сравнению с группой условно здоровых лиц, экспрессия гена *DEFB1* как у пациентов с ПОУГ, так и у пациентов с катарактой была снижена. Уровень экспрессии гена *DEFB1* в периферической крови больных с ПОУГ оказался ниже в 3,3 раза, по сравнению с условно здоровыми лицами, а при катаракте –

в 2 раза. Эти различия были статистически значимыми ($p < 0,05$), что подчёркивает выраженное угнетение врождённого антимикробного ответа при глаукоме. Минимальный уровень экспрессии зафиксирован в группе пациентов с ПОУГ (0,177).

После выявления изменений в экспрессии *DEFB1*, отражающих нарушение механизмов врождённой антимикробной защиты, следующим этапом исследования стало изучение экспрессии гена *IL6*.

Установлено, что уровень экспрессии гена *IL6* пациентов с ПОУГ оказался в 4 раза ниже, чем в группе условно здоровых лиц ($p < 0,05$). У больных с катарактой снижение также отмечалось, однако оно было менее выраженным (в 1,5–2 раза) и статистически значимым не являлось. Таким образом, выявленное снижение экспрессии *IL6* при ПОУГ может отражать особенности системной регуляции воспалительного ответа при данном заболевании.

Для дальнейшей оценки особенностей системного воспалительного фона при ПОУГ была проанализирована экспрессия гена *IL17F*.

На рис. 2 изображены показатели экспрессии гена *IL17F*, исследованные в периферической крови у пациентов с ПОУГ, катарактой и у лиц контрольной группы. У пациентов с ПОУГ выявлено статистически значимое снижение уровня экспрессии *IL17F* в периферической крови, чем у групп сравнения и контроля ($p < 0,05$). Уровень экспрессии гена *IL17F* у больных с глаукомой оказался в 3 раза ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Также было выявлено, что экспрессия *IL17F* при ПОУГ ниже, чем у пациентов с катарактой, хотя различия между данными у лиц с катарактой и в группе контроля не достигли статистической значимости. Полученные результаты могут указывать на нарушение Th17-звена иммунной регуляции, а также противовоспалительных или защитных механизмов, опосредованных этим цитокином.

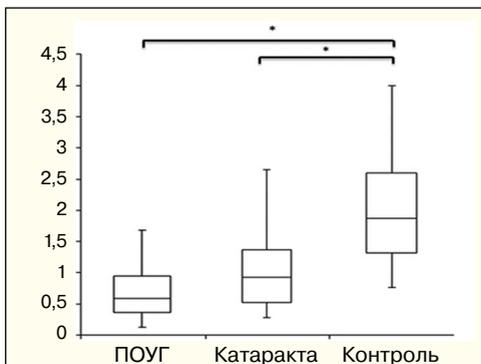


Рис. 1. Медианные значения уровня экспрессии гена *DEFB1* (отн. ед.) у пациентов с ПОУГ, катарактой, по сравнению с контрольной группой. Примечание: * – $p < 0,05$.

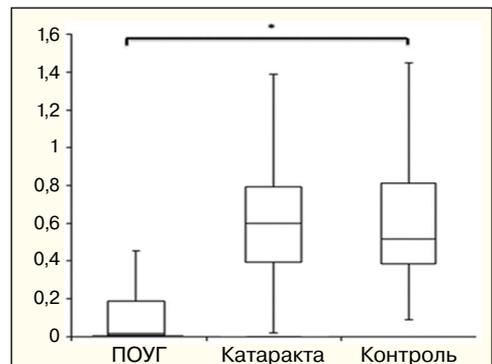


Рис. 2. Медианные значения уровня экспрессии гена *IL17F* (отн. ед.) у пациентов с ПОУГ, катарактой, по сравнению с контрольной группой. Примечание: * – $p < 0,05$.

На следующем этапе было проанализировано, как изменяется уровень экспрессии генов *DEFB1*, *IL-6*, *IL17F* в зависимости от стадии глаукомы. Установлено, что уровень экспрессии гена *DEFB1* значительно снижен при всех стадиях ПОУГ, по сравнению с контрольной группой. Выявленные различия между стадиями ПОУГ (I стадия – 1,1149 [0,6615–1,516], II стадия – 0,616 [0,4675–0,871], III стадия – 1,0 [0,8455–1,465], IV стадия – 0,536 [0,319–0,736]) и контролем (1,866 [1,32–2,595]) были статистически значимыми ($p < 0,05$). Такое устойчивое снижение уровня экспрессии *DEFB1* свидетельствует о нарушении компонентов врождённого иммунного ответа, что может приводить к снижению барьерных и защитных функций тканей глаза и способствовать формированию хронической воспалительной среды.

Экспрессия *IL6* проявляет двухфазную динамику. На ранних стадиях ПОУГ (I–II) уровень *IL6* постепенно снижался (I стадия – 0,435 [0,165–0,8895], II стадия – 0,051 [0,0385–0,197]), что свидетельствует о запуске воспалительного ответа. Затем на III стадии наблюдалось резкое снижение экспрессии – 0,008 (0,0025–0,023), по сравнению с уровнем экспрессии у условно здоровых лиц – 0,165 (0,054–0,875, $p < 0,05$), что может отражать фазу иммунного дисбаланса или подавления воспаления.

Важно, что на IV стадии глаукомы уровень *IL6* вновь повышался. Это может свидетельствовать о вторичной активации воспаления, связанной с прогрессированием нейродегенеративного процесса и усилением иммунного ответа на поздних стадиях заболевания. Такое «двугорбое» изменение уровня *IL6* отражает фазовый иммунный дисбаланс, когда периоды активации воспаления сменяются фазами его подавления, что характерно для хронических воспалительных заболеваний с прогрессирующей патологией.

Данные экспрессии гена *IL17F* показывают значимое снижение экспрессии на ранних стадиях ПОУГ (I стадия – 0,01 [0,005–0,279], II стадия – 0,01 [0,0045–0,0185], III стадия – 0,005 [0,001–0,046]), по сравнению с группой здоровых лиц ($p < 0,05$). При IV стадии глаукомы (0,435 [0,1545–0,66]) уровень экспрессии *IL17F* был близок к показателям у здоровых лиц (0,518 [0,386–0,812]) без статистически значимых различий. Рост уровня экспрессии *IL17F* на последней стадии заболевания может свидетельствовать о повторной активации иммунных процессов, обусловленной прогрессированием нейродегенеративных изменений при глаукоме.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют значительное снижение экспрессии генов *DEFB1*, *IL6* и *IL17F* в перифериче-

ской крови пациентов с ПОУГ, по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженное угнетение экспрессии отмечено для гена *DEFB1*, что свидетельствует о нарушении механизмов врождённой антимикробной защиты. Снижение экспрессии *IL6* и *IL17F* может отражать дисбаланс в регуляции воспалительного ответа, в том числе нарушение активности Th17-клеток, участвующих в патогенезе хронических нейродегенеративных заболеваний.

Анализ стабильности ПОУГ выявил устойчивое снижение *DEFB1* на всех этапах заболевания, что подтверждает его возможную роль в поддержании локального иммунного гомеостаза. Для *IL6* и *IL17F* выявлена фазовая динамика экспрессии: на поздних стадиях отмечено повторное повышение их уровня, что может быть связано с реактивацией воспаления на фоне нейродегенеративных процессов. Такая динамика может указывать на сложный характер иммунной регуляции при глаукоме, сочетающий фазы иммуносупрессии и повторной активации воспалительного ответа.

В совокупности данные результаты подтверждают участие врождённого иммунного ответа в патогенезе ПОУГ и подчеркивают необходимость дальнейших исследований иммунологических механизмов заболевания.

Заключение

В условиях высокой распространённости ПОУГ и сложности её патогенеза важно выявлять ключевые иммунные механизмы, влияющие на развитие нейродегенеративных процессов. По данным авторов настоящей статьи, у пациентов с ПОУГ отмечается значительное снижение экспрессии генов *DEFB1*, *IL6* и *IL17F*, что свидетельствует о нарушении врождённого иммунного ответа и снижении противовоспалительной активности.

Представляет интерес дальнейшее исследование изменений экспрессии и других иммунных маркеров у больных с различными стадиями ПОУГ для возможного использования полученных результатов в клинической практике.

Разработка терапевтических стратегий, направленных на нормализацию иммунных реакций и усиление защитных функций организма, может способствовать замедлению прогрессирования заболевания и улучшению качества жизни пациентов.

Литература

