

Факторы врожденного иммунитета в патогенезе глаукомы и оптической нейропатии

Н.В. Балацкая, С.Ю. Петров, В.И. Котелин

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

Factors of innate immunity in the pathogenesis of glaucoma and optic neuropathy

N.V. Balatskaya, S.Yu. Petrov, V.I. Kotelin

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russia

Аннотация

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является мультифакториальным заболеванием, в основе которого лежит прогрессирующая глаукомная оптическая нейропатия (ГОН), приводящая к нейродегенерации ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) и их аксонов, завершающаяся в исходе необратимой потери зрительных функций.

Помимо главных причин возникновения и развития ПОУГ – повышенного внутриглазного давления (ВГД), пожилого возраста и генетической предрасположенности, процесс дегенеративно-деструктивного поражения зрительного нерва (ЗН) ассоциирован с целым рядом факторов, среди которых ключевая роль принадлежит патологической активации иммунологических механизмов, расшифрованных благодаря успехам в области исследований адаптивного иммунитета.

Цель написания данного обзора – обобщение данных экспериментальных и клинических работ, посвященных изучению врожденного иммунитета и его регуляции в патогенезе ГОН.

Показано, что глиальные элементы, являясь клетками системы врожденного иммунитета в сетчатке, осуществляют распознавание и формируют ответную реакцию на паттерны повреждения, регулируя локальное воспаление при глаукоме.

В обзоре обсуждаются механизмы участия DAMPs (от англ. damage-associated molecular patterns – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением) в индукции локального воспаления при ПОУГ, из которых наиболее изученными на сегодняшний день являются белки теплового шока – HSPs (от англ. heat shock proteins), алармин – HMGB1 (от англ. high-mobility group protein B1), а также окислительно модифицированные биомолекулы.

Большое внимание уделено TLRs (от англ. Toll-like receptors, толл-подобные рецепторы), в частности, TLR4 (от англ. toll-like receptor 4, толл-подобный рецептор 4), распознающим паттерны опасности, обеспечивающим защиту от повреждения в условиях нормы и при развитии патологического процесса при глаукоме. Взаимодействие TLRs с DAMPs, запускает провоспалительные клеточные

Summary

Primary open-angle glaucoma (POAG) is a multifactorial disease based on progressive optic neuropathy (ON) that leads to neurodegeneration of ganglion retinal cells and their axons, resulting in an initially irreversible loss of visual function.

In addition to the main reasons for the onset and development of POAG - increased intraocular pressure, old age and genetic predisposition, the process of degenerative-destructive damage to the optic nerve is associated with a number of factors, among which the key role belongs to the pathological activation of immunological mechanisms deciphered due to advances in adaptive immunity research.

The purpose of this review is to summarize the data of experimental and clinical studies devoted to the study of innate immunity and its regulation in the pathogenesis of ON. It has been shown that glial elements, being cells of the innate immune system in the retina, carry out recognition and form a response to damage patterns by regulating local inflammation in glaucoma.

In the review the mechanisms of DAMPs involvement in the induction of local inflammation in POAG are discussed, of which the most studied to date are heat shock proteins, alarmin – HMGB1 (high-mobility group protein B1), as well as oxidatively modified biomolecules.

Much attention is paid to TLRs, in particular, TLR4, which recognize hazard patterns, provide protection against damage under normal conditions and during the development of a pathological process in glaucoma. Interaction of TLRs with DAMPs triggers pro-inflammatory cell cascades, the production of cytokines, chemoattractant mediators that support inflammation in the nervous tissue.

In addition to TLRs, the review discusses other groups of receptors, such as NLRs and RAGEs.

The ways of activation and the sequence of assembly of the inflammasome complex (NLRP3) in the simulation of acute glaucoma in the experiment are described and a conceptual scheme for the activation of innate immunity in POAG is presented.

Further research in the field of innate immunity will contribute to the full deciphering of the mechanisms of

каскады, выработку цитокинов, хемоаттрактантных медиаторов, поддерживающих воспаление в нервной ткани. Помимо TLRs в обзоре рассматриваются другие группы рецепторов, такие как: нуклеотид-связывающие олигомеризационные доменовые Nod-подобные рецепторы (NLRs; от англ. nod-like-receptors) и RAGEs (от англ. receptor for advanced glycation end products, рецепторы для конечных продуктов гликирования). Описаны пути активации и последовательность сборки инфламмосомного комплекса (NLRP3) при моделировании острой глаукомы в эксперименте, представлена концептуальная схема активации врожденного иммунитета при ПОУГ.

Дальнейшие исследования в области врожденного иммунитета будут способствовать полноценной расшифровке механизмов нейровоспаления, разработке биологических маркеров для диагностики и мониторинга патологического процесса, стратегии таргетной терапии (подходов к управлению локальной воспалительной реакцией на уровне взаимопереходов M1 и M2 фенотипов микроглии и т. д.) глаукоматозной оптической нейропатии и нейродегенеративных заболеваний сетчатки.

Ключевые слова

Глаукома, врожденный иммунитет, PRRs, DAMPs, инфламмосома, микроглия, нейровоспаление.

ПОУГ является мультифакториальным заболеванием, в основе которого лежит прогрессирующая ГОН, приводящая к нейродегенерации ГКС и их аксонов, завершающаяся в исходе необратимой потерей зрительных функций [1].

Около 3,5 процента населения мира в возрасте от 40 до 80 лет страдают глаукомой. По прогнозам, к 2040 году количество больных глаукомой может достигнуть 111,8 млн [2]. Неуклонный и стабильный рост заболеваемости, хроническое прогрессирующее течение, приводящее в конечном итоге к слепоте и потере работоспособности, высокий процент инвалидизации, значительные затраты больного и государства в целом позволяют говорить о глаукоме как о медико-социальной проблеме.

Главным провоцирующим фактором развития ГОН при ПОУГ является повышенный уровень ВГД с последующим развитием гипоксии, снижением концентрации в клетках нейротрофического фактора головного мозга и локальным увеличением концентрации глутаматов [3]. Однако прогрессирующая дегенерация ГКС и их аксонов обнаруживается и у больных с нормальным уровнем ВГД, то есть при глаукоме нормального давления [4]. Показано, что у пациентов с офтальмогипертензией, несмотря на эффективность снижения ВГД, вторичная нейродегенерация сохраняется и затрагивает соседние нейроны и патологический процесс продолжается [5].

neuroinflammation, the development of biological markers for the diagnosis and monitoring of the pathological process, strategies for targeted therapy (approaches to the management of the local inflammatory response at the level of M1 and M2 transitions of microglia phenotypes, etc.) of glaucomatous optical neuropathy and neurodegenerative diseases of the retina.

Keywords

Glaucoma, innate immunity, PRRs, DAMPs, inflammasoma, microglia, neuroinflammation.

Помимо главных причин возникновения и развития ПОУГ – повышенного ВГД, пожилого возраста и генетической предрасположенности, процесс дегенеративно-деструктивного поражения ЗН ассоциирован с целым рядом дополнительных факторов, среди которых ключевая роль принадлежит, по мнению большинства исследователей, патологической активации системных аутоиммунных механизмов, расшифрованных благодаря успехам в области исследований адаптивного иммунитета [6].

На сегодняшний день как в эксперименте, так и в клинике уже определен широкий ряд органоспецифических и межорганных аутоантител (к нативной ДНК, фосфолипидам, кардиолипину, нейронспецифической энолазе, глутатионпероксидазе, гликозаминогликанам и т.д.) [7].

Представлены доказательства участия аутореактивных клонов Т-лимфоцитов, специфичных к антигенам тканей глаза, в прогрессирующей потере ГКС и их аксонов при моделировании экспериментальной глаукомы [6].

В крови пациентов с ПОУГ отмечают снижение количества основных регуляторных субпопуляций Т-звена иммунитета CD4+/CD25+/FoxP3+ Tregs (CD4Tregs) и CD8+/CD25+/FoxP3 Tregs (CD8Tregs), усиление пролиферативной активности Т-хелперов и достоверный рост продуцируемых ими цитокинов Ил-1β, Ил-6, ИФН-γ, TNF-α, MCP-1 при инкубации с ретинальными

антигенами (выделенными из глаукоматозных глаз) по сравнению с показателями здоровых доноров [8].

Yang J. и соавт. в своей работе также обращают внимание на существенные сдвиги в популяционном составе лимфоцитов больных с глаукомой – значительное увеличение в крови Т-цитотоксических клеток (CD3+CD8+) и, особенно, CD5+ популяции В-лимфоцитов [9].

Вместе с тем, результаты исследований последних лет показывают, что в патогенезе ПОУГ также важную роль играет врожденный иммунитет – система защиты от вирусов, патогенных организмов, а также продуктов клеточной деструкции. Установлено, что индукторами воспаления на клеточном уровне при глаукоме являются молекулярные структуры – DAMPs, высвобождающиеся из тканевых оболочек глаза при их повреждении [10].

Избыточное накопление DAMPs, представляющих собой факторы тканевой деструкции, образующихся в результате хронического компрессионного стресса (вызванного повышенным уровнем ВГД), ишемии и реперфузии, длительного накопления токсинов, изменения pH среды, дисфункции митохондрий и других механизмов, идентифицируются клеточными паттерн-распознающими рецепторами PRRs (от англ. pattern recognition receptors), расположенными на поверхности мембраны и внутри клетки (эндосомальных мембранах и в цитоплазме) [11]. Взаимодействие DAMPs с этими рецепторами ведет к индукции сигнала, запускающего эффекторные компоненты иммунной системы, активации каспаз, формированию инфламмосомы, продукции зрелых форм медиаторов воспаления [12].

Полагают, что функция PRRs при ПОУГ заключается в обеспечении раннего распознавания повреждающих агентов, активации сигнальных путей и эффекторных механизмов неспецифической системы иммунной защиты, направленных на восстановление гомеостаза [13].

PRRs могут связываться с широким спектром агентов повреждения, поэтому распознавание ими лигандов не является специфическим.

Класс молекул, распознающих паттерны опасности, включает семейство Toll-подобных рецепторов, С-лектиновые рецепторы и семейство цитоплазматических белков, индуцируемых геном ретиноевой кислоты – RIG-I-подобные рецепторы (RLRs), NLRs и ряд внутриклеточных сенсорных молекул, распознающих ДНК [13].

Наиболее хорошо изученным семейством PRRs являются Toll-подобные рецепторы – TLRs.

В норме TLRs распознают паттерны опасности (стресс-сигналы), включая продукты тканевой деструкции и широкий спектр патогенных организмов. Взаимодействие TLRs и лиганда активирует внутриклеточные MyD88/TRIF-зависимые пути передачи сигнала, позволяющие ядерным факторам NF- κ B (AP-1), IRF7/IRF3 транслоцироваться в ядро клетки, запускать транскрипцию провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12 и интерферонов I типа (Рис. 1).

У человека TLRs экспрессируются всеми клетками иммунной системы, а также эндотелием, фибробластами и нейронами [14]. Семейство TLRs включает 10 разновидностей рецепторов у человека (TLR1-TLR10) и 12 типов у мыши (TLR1-TLR9, TLR11-TLR13).

Экспрессия Toll-like рецепторов выявлена во всех оболочках глаза человека [15]. Kumar и соавторы в 2004 году [16] впервые сообщили о наличии мРНК практически всех типов TLRs, за исключением TLR8, в клетках ретиального пигментного эпителия человека, что в дальнейшем было подтверждено Hooks et al. В первичных фоторецепторных клетках экспрессируются TLR4 [17]. В 2012 году в эксперименте было показано, что глиальные элементы сетчатки – клетки Мюллера также активно экспрессируют TLR 1-10 [18]. Доказательства подобной функциональной активности микроглии (TLR1, 2, 4, 6) получены в работах Ко М.Н., Kochan T. et al. [19, 20]. Экспрессия TLR2, 3 и 4 обнаружена в культуре ретиальных астроцитов. Так, в меланоцитах и эндотелиальных клетках сосудистой оболочки (хориоидеи) экспрессируется широкий спектр рецепторов TLR: 1-10 [21]. Высокий уровень экспрессии TLR 1-10, и, особенно, гена TLR3 выявлен в эндотелиоцитах сосудов сетчатки человека [22].

Гиперэкспрессия/гиперактивация TLRs, избыточное накопление распознаваемых ими DAMPs, ведет к патологическим изменениям в тканях и развитию очагов хронического аутовоспаления при целом ряде заболеваний, в том числе при глазной ишемической патологии, офтальмогипертензии (диабетической ретинопатии, ретинопатии недоношенных, глаукоме), а также при острой ишемии/реперфузии.

Наиболее изученными рецепторами семейства TLRs при глаукомной патологии являются TLR2 и в большей мере TLR4.

Так, Luo C. и соавт. выявили повышенную экспрессию этих рецепторов на поверхности клеток микроглии сетчатки кадаверных глаз больных глаукомой [23].

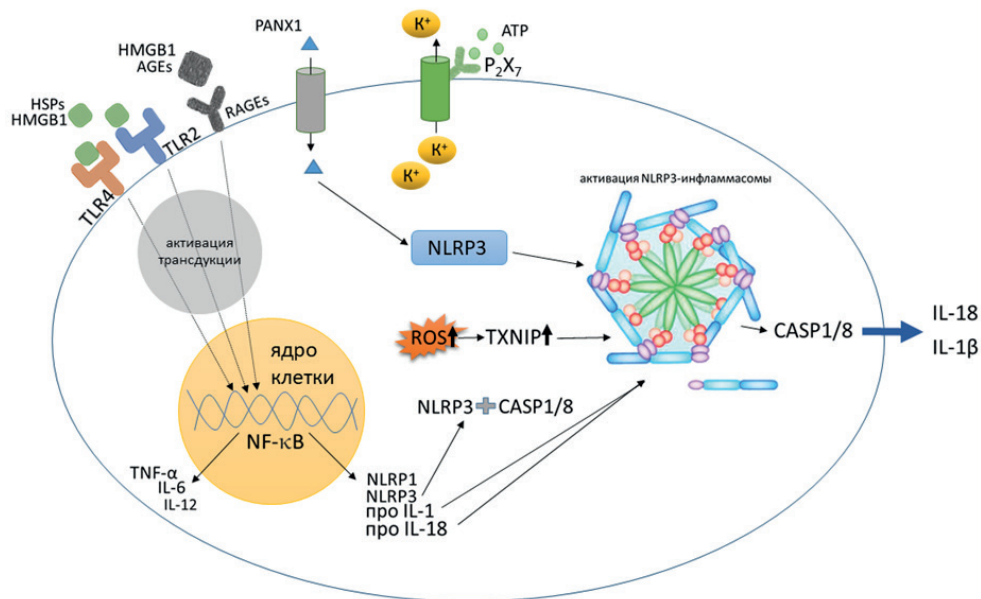


Рис. 1. Концептуальная схема активации механизма врожденного иммунитета при ПОУГ. Активация и сборка инфламмосомы NLRP3 при остром приступе глаукомы

Расшифровка аббревиатур:

HSPs (от англ. heat shock proteins) – белки теплового шока

HMGB1 (от англ. high-mobility group protein B1) – амфотерин, белок из группы ядерных негистоновых белков HMG

AGEs (от англ. advanced glycation end-products) – белки или липиды, которые подверглись гликированию углеводами.

RAGEs (от англ. receptor for advanced glycation end products) – рецепторы для AGEs

TLR4 (от англ. toll-like receptor 4) – толл-подобный рецептор 4

TLR2 (от англ. toll-like receptor 2) – толл-подобный рецептор 2

PANX1 (от англ. pannexin 1) – белок, кодирующийся одноименным геном

ATP (от англ. adenosine triphosphate) – аденозинтрифосфат

K⁺ – ионы калия

P2RX7 (от англ. P2X purinoceptor 7) – белок, кодирующийся одноименным геном

NF-κB (от англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) – ядерный фактор «каппа-би»

TNFα (от англ. tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли

IL-6 – интерлейкин 6

IL-12 – интерлейкин 12

IL-18 – интерлейкин 18

IL-1 β – интерлейкин 1 β

про IL-1 – проинтерлейкин 1

про IL-18 – проинтерлейкин 18

NLRP1 – цитозольный белок, Nod-подобный рецептор семейства NALP

NLRP3 – цитозольный белок, Nod-подобный рецептор семейства NALP, основной компонент одноименного типа инфламмосом

ROS (от англ. reactive oxygen species) – реактивные формы кислорода

TXNIP (от англ. thioredoxin-interacting protein) – белок, кодирующийся одноименным геном

CASP1/8 (от англ. caspase-1/8) – каспаза 1/8

В экспериментальной модели компрессионного поражения ЗН Morzaev D. и др. представлены доказательства TLR4-зависимого пути индукции гибели ГКС; показано, что у животных, нокаутированных по TLR4, сохранялась жизнеспособность ГКС и была значительно выше, чем у мышей дикого типа [24]. Кроме того, результаты серии экспериментов по лечению *in vivo* показали, что ингибирование TLR4-NF-κB пути может быть одним из перспективных подходов для предотвращения апоптотического каскада ГКС при глаукоме [25].

Известно, что среди рецепторов системы врожденного иммунитета TLRs взаимодействуют с наиболее широким спектром лигандов DAMPs.

Наиболее изученными при глаукоме DAMPs на сегодняшний день являются HSPs, алармин – HMGB1 (от англ. high-mobility group protein B1), окислительно модифицированные молекулы (белки).

Белки теплового шока млекопитающих в зависимости от молекулярной массы, структуры и функций подразделяются на пять основных групп: HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60, и малые

HSPs (15-30 кДа, включая HSP B1 (HSP 27) и альфа-кристаллины (HSP B4 и HSP B5), в нормальных физиологических условиях, выполняющих функции шаперонов.

Конститутивная экспрессия малых HSPs обнаруживается в структурах нормальной сетчатки, в частности, в слое ГКС и нервных волокон, а также ретинальных сосудах млекопитающих [26, 27].

Показано, что стресс-реакция глаукоматозной сетчатки и ЗН ассоциирована с повышенной продукцией белков теплового шока.

Так, при моделировании глаукомы у мышей DBA / 2J и крыс Brown Norway выявлено значительное увеличение общего HSP B1, фосфорилированного HSP 27 (pHSP 27) по сравнению с контролем [28]. Кроме того, повышенная экспрессия HSP B1 наблюдалась в ГКС и астроцитах крыс с лазериндуцированной глаукомой [27]. В глаукомных глазах человека с ПОУГ, а также глаукомой нормального давления усиленная экспрессия HSP B1 определялась в ГКС, астроцитах и головке зрительного нерва (ГЗН) [29].

В модели экспериментальной глаукомы крыс Wistar экспрессия HSP 72 в сетчатке увеличивалась по мере увеличения ВГД, а ее уровень был достоверно выше в группе животных с повышенным ВГД по сравнению с нормой [30].

Система TLRs и HSPs, функционирующих в качестве DAMPs для PRRs продемонстрирована на первичных культурах микроглии и астроцитов, полученных из сетчатки крыс, модели глаукомы, вызванной хронически повышенным ВГД *in vitro*.

Показано, что добавление HSPs и H₂O₂ приводило к значительному усилению экспрессии глиальных TLR4 и МНС класса II, повышению концентрации провоспалительных цитокинов в культуральной среде.

Таким образом, были получены доказательства того, что компоненты глаукомного тканевого стресса (воздействие белков теплового шока и активных форм кислорода), могут инициировать иммуностимулирующие пути передачи сигналов через активацию глиальных TLRs [23].

Белок HMGB1 – алармин, обнаруженный более 30 лет назад, также играет роль в развитии глаукомы, индуцированной ВГД. Он высвобождается некротическими клетками и действует как DAMP, активируя TLR2 и TLR4 [31].

Алармин представляет собой ядерный белок, который может действовать экстрацеллюлярно, как внеклеточный триггер воспаления, проли-

ферации и миграции при офтальмопатиях. Он способен индуцировать провоспалительные сигнальные каскады за счет связывания с рецептором RAGE и TLR 2, 4 и 9. В модели ишемического / реперфузионного повреждения и воспаления сетчатки экспрессия HMGB1 повышалась в пигментном эпителии, эндотелиальных клетках сетчатки, ГКС, клетках Мюллера, астроцитах и фоторецепторах [32].

Повышенные уровни экспрессии алармина, TLR-2 и RAGE, а также Bcl-2 были обнаружены в эксплантатах сетчатки *in vitro*, при инкубации с рекомбинантным rHMGB-1 или в условия высокого давления [33].

Показано, что уровень HMGB1 во ВГЖ у больных с закрытоугольной глаукомой был существенно выше по сравнению с группой контроля (пациенты с сенильной катарактой и коррелировал с уровнем ВГД [34].

Экспрессия алармина также была значительно повышена в сетчатке крыс с повреждением ЗН (модель глаукомы) по сравнению с контролем (нормальной сетчаткой). Исследователи пришли к выводу о том, что HMGB1 способствует воспалению и участвует в патогенезе нейродегенеративных заболеваний глаз путем запуска апоптоза ГКС. HMGB1 может играть ключевую роль в хронической дегенерации ГКС после первоначального повреждения [35].

В группу PRRs при глаукоме, как возрастном заболевании, можно отнести RAGEs рецепторы, распознающие AGEs (от англ. advanced glycation end-products) – модифицированные молекулярные продукты неферментативного гликозилирования, а также HMGB1. При взаимодействии RAGEs с лигандами запускается провоспалительный ответ через индукцию сигнального каскада с участием NF-κB.

Экспрессия RAGEs определялась в нейронах, сосудистой сети и клетках ретинального пигментного эпителия при патологических клеточных ответах сетчатки, включая образование эпиретинальных и неоваскулярных мембран [36].

Показаны большее накопление AGEs (преимущественно внеклеточно) и повышенная экспрессия RAGEs в сетчатке (глиальных клетках, клетках Мюллера) и ГЗН глаукоматозных глаз [37].

Кроме TLRs и RAGEs в оболочках глаза обнаруживаются NLRs и RLRs, распознающие повреждающие агенты в цитоплазме клетки. Эти рецепторы участвуют в путях передачи сигналов, способствуют формированию провоспалитель-

ных ответов, продукции интерферонов I типа и индукции адаптивного иммунитета.

NLRs являются внутриклеточными цитоплазматическими рецепторами, которые играют важную роль в распознавании сигналов опасности от PAMPs (от англ. pathogen-associated molecular patterns, патоген-ассоциированные молекулярные фрагменты молекул) и DAMPs [38].

Помимо инфекционных заболеваний глаз, роль NLRs рецепторов обсуждается при глаукоме, возрастной макулярной дегенерации и диабетической ретинопатии.

Белки NLR семейства по структуре представляют собой большие многодоменные молекулы с трехпартитурной архитектурой. Характерными признаками протеинов NLRs семейства являются наличие в N-конце молекулы эффекторного домена; в центральной части – нуклеотидсвязывающего домена (nucleotide-binding domain – NBD)/домена олигомеризации нуклеотидов (NOD или NACHT); в C-терминальном конце – домена, богатого лейциновыми повторами (leucinerichrepeats – LRR).

Показано, что NOD-подобные рецепторы помимо экспрессии в иммунокомпетентных клетках [39], синтезируются в цитоплазме ретинального пигментного эпителия, глиальных элементах сетчатки, эндотелии роговицы. Семейство NLRs является самым многочисленным из известных на сегодня семейств PRRs, внутри которого выделено 5 подсемейств NLRA, NLRB, NLRC, NLRP и NLRX.

NOD1 и NOD2 рецепторы (подсемейство NLRC) обладают TLR-подобной активностью: известно, что для этих рецепторов в качестве специфических лигандов выступают PAMP, а результатом активация NOD1 и NOD2 является индукция воспалительных сигнальных каскадов, активирующих NF-κB.

Рецепторы подгруппы NLRP распознают как экзо-, так и эндогенные PAMPs и DAMPs, активация которых инициирует сборку инфламмосомы, запускающей созревание цитокинов про-IL-1β, про-IL-18 и индукцию пироптоза [40].

Инфламмосома представляет собой специализированный белково-ферментный комплекс, формируемый из: белка NLRP, адаптерного протеина, содержащего домен активации каспазы – ASC и каспаз – 1/5 (каспаз-эффекторов) [12].

Наибольшее внимание исследователей сегодня привлекает NLRP3-инфламмосома, сборка и функционирование которой играет важную роль в развитии стерильного воспалительного процесса при различных заболеваниях. Инфламмосомный

комплекс NLRP3 состоит из белка NLRP3, адаптерной молекулы ASC и каспаз-1/5. Активация NLRP3 инфламмосомы приводит к протеолитическому расщеплению про-IL-1β и про-IL-18 и образованию их зрелых форм.

Образование NLRP3-инфламмосомы осуществляется по двухсигнальному пути. Первый сигнал (необходимый, но недостаточный) формируется при распознавании PAMPs/DAMPs системой TLRs, а также при взаимодействии провоспалительных цитокинов с их рецепторами на поверхности клетки, и ведет к активации NFκB и усиленной экспрессии TNFα, про-IL-1β, IL-6, IL-12, про IL-18, а также NLRP3 (Рис. 1) [41].

Второй важный для сборки комплекса сигнал поступает от молекул АТФ, накопившихся внеклеточно, токсинов, разрушающих мембрану клетки, кристаллических веществ [42], холестерина и продуктов его обмена [43], РНК патогенных организмов [44], катепсина В, активных форм кислорода, в частности, TXNIP [45]. В момент второго сигнала происходит последовательная активация и олигомеризация NLRP3, затем ASC, которые, в итоге, ведут к образованию NLRP3-инфламмосомного комплекса. Сформированная инфламмосома способствует процессингу каспазы-1, обладающей высокой ферментативной активностью в отношении про-IL-1β, расщепляя его молекулу до зрелой формы.

Было показано, что отсутствие экзогенного сигнала АТФ при стимуляции PRRs моноцитов человека не приводило к отмене синтеза зрелого IL-1β [46]. Однако в более поздних исследованиях было продемонстрировано PRRs лиганд зависимое экстраклеточное накопление АТФ, стимулирующих по аутокринному механизму пуринергический P2X7-рецептор для активации каспазы-1 и образования IL-1β в моноцитах [47]. На сегодняшний день известно, что P2X7 является одним из наиболее мощных активаторов инфламмосомы NLRP3 и, следовательно, расщепления каспазы-1 и высвобождения зрелого IL-1β [48].

Роль инфламмосомного воспаления в патогенезе ПОУГ находится на стадии изучения.

В единичных экспериментальных исследованиях получены доказательства, что активация и сборка инфламмосомных комплексов NLRP1, NLRP3 играют решающую роль в патогенезе острой глаукомы [49].

В модели острой индуцированной глаукомы у мышей быстрое повышение ВГД запускало высвобождение HMGB1, активацию инфламмосомы NLRP3, и каспазы-8 зависимую продукцию

зрелого IL-1 β . При ингибировании HMGB1 уровни NLRP3, каспазы-8, IL-1 β снижались, что, в свою очередь, способствовало снижению тяжести заболевания за счет уменьшения гибели ГКС и стабилизации толщины сетчатки. Ингибирование каспазы-8 подавляло сборку инфламмосомы NLRP3 и продукцию IL-1 β , что позволяет предположить, наличие каспазы-8-сигнального пути активации NLRP1 и NLRP3 (Рис. 1) [50].

Также в исследовании Chi W. и соавт. было продемонстрировано, что в модели острого приступа глаукомы интравитреальное введение ингибиторов каспаз-1 и 8 значительно ослабляло остроту патологического процесса в глазу у экспериментальных животных [49].

Глиальные элементы, являясь клетками системы врожденного иммунитета в сетчатке, осуществляют распознавание и формируют ответную реакцию на паттерны повреждения, регулируя локальное воспаление при глаукоме.

Клетки Мюллера поддерживают рециркуляцию глутамата, функционирование и метаболизм нейронов сетчатки, высвобождая трофические факторы и контролируя внеклеточный ионный гомеостаз.

Астроциты сетчатки выполняют те же функции, что и клетки Мюллера: нейротрофическую, метаболическую, опорную, а также поддерживают гематоофтальмический барьер. Астроциты сетчатки, однако, почти полностью ограничены слоем нервных волокон сетчатки и в меньшей степени слоем ГКС [51].

Микроглия – это клетки миелоидного происхождения, попадающие в сетчатку из системного кровотока. Микроглия представлена резидентными макрофагами, реагирует на повреждение нервных клеток, играет важную роль в гомеостазе сетчатки: участвует в восстановлении после травм [52].

В настоящее время признано, что активация микроглии сетчатки ассоциирована с двумя ее фенотипами: M1-подобный и M2-подобный, соответствующие фенотипам M1 и M2 активированных макрофагов (Рис. 2). Микроглия реагирует на провоспалительные молекулы, такие как бактериальный липополисахарид (LPS) или интерферон- γ (IFN- γ), принимая «классический» M1-подобный фенотип, который продуцирует высокие уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-12 и TNF- α). M1-подобные клетки обладают амебоидной морфологией и связаны с высокой фагоцитарной способностью и подвижностью. M1-подобный

ответ является защитным и подавляется после нивелирования стресс-воздействия. Однако неконтролируемая длительная M1-подобная активация может вызывать нейротоксичность из-за чрезмерной экспрессии провоспалительных цитокинов и нейротоксических агентов [53]. «Альтернативный» M2-подобный фенотип микроглии, характеризуется продукцией противовоспалительных медиаторов (например, IL-10 и TGF- β) и нейротрофических факторов (IGF-1) [54].

В экспериментальных моделях глаукомы повышение ВГД вызывает трансформацию большей части микроглиальных элементов в MHC-II+ / M1-подобные клетки, в то время как небольшая часть CD86+ M2-подобных клеток выявляются в ГКС и слое нервных волокон. Предположительно, активация T-клеток подавляется из-за отсутствия костимуляции, что приводит к подавлению иммунного ответа. После активации M1-микроглия принимает переходное состояние M2 и активирует CD68, CD206 и Ym1, прежде чем вернуться в состояние покоя [55]. Таким образом, большая часть микроглиальных клеток при моделировании глаукомы проявляет фенотип M1.

В нормальных условиях оба типа клеток находятся в состоянии баланса, однако, при стрессовом воздействии, в элементах микроглии происходит динамический процесс, характеризующийся нарушением «равновесия» между фенотипами M1 и M2 [55]. При уровне воздействия неадекватному защитным функциям M2-микроглии происходит декомпенсация и нейровоспалительная реакция, с высвобождением соответствующих провоспалительных элементов.

В патологических условиях астроциты и клетки Мюллера тоже претерпевают большую трансформацию, называемую «реактивным глиозом». Исследования показали, что «реактивные» астроглиальные клетки могут оказывать как защитное, так и повреждающее действие (в зависимости от текущего фенотипа) на выживаемость нейронов при глаукоме и других нейродегенеративных состояниях [56]. Нейровоспаление индуцирует два типа реактивных астроцитов: «A1» и «A2», соответственно номенклатуре макрофагов / микроглии «M1» и «M2».

Показано, что A1-«реактивные» астроциты могут вызывать нейровоспаление посредством активации многих генов (например, каскада комплемента) [57]. A2-астроциты, наоборот, способны усиливать экспрессию нейротрофических факторов, способствующих выживанию и

росту нейронов, восстановлению синаптических контактов.

Астроглиальные клетки и микроглия взаимодействуют для регуляции воспалительного ответа при различных заболеваниях сетчатки [58].

M1-подобная микроглия экспрессирует IL-1 α , C1q и TNF- α , индуцирующие астроциты фенотипа A1 и способствуют гибели нейронов при нейродегенеративных заболеваниях. Напротив, реактивные астроциты также могут секретировать цитокины и хемокины, такие как CCL2, CXCL1, CXCL10, GM-CSF и IL-6, которые активируют микроглию, инфильтрирующие дендритные клетки, моноциты / макрофаги и Т-клетки в воспаленной ткани [56]. На сегодняшний день в научном сообществе ведется дискуссия о том,

происходит ли активация микроглии до, одновременно или после активации астроглии.

Микроглия фенотипа M1 секретирует множество провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-23, IL-1 β , IL-6, IL-18 и IL-12, что приводит к нейротоксической гибели нейронов. Фенотип M2 секретирует трансформирующий фактор роста- β , IL-4, IL-10 и IL-13, обладающие нейропротективным действием для нейронов [59].

Заключение

Растущее количество данных свидетельствует о том, что иммунопатогенез глаукомы активно изучается, однако механизмы врожденного иммунитета при ГОН еще до конца не расшифрованы.

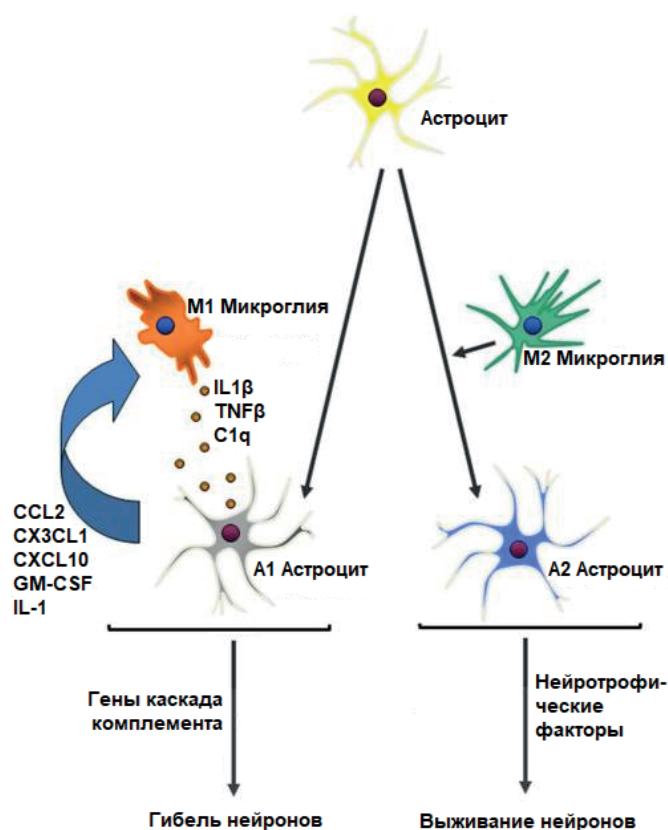


Рис. 2. Схема взаимодействия микроглии и астроцитов

Воздействие патологических стимулов индуцирует трансформацию микроглиальных элементов (из M1- в M2-подобный фенотип) и астроцитов (переход A1- в A2-астроцитарный фенотип). Длительное стресс-воздействие вызывает нейровоспалительный или нейропротекторный ответ посредством высвобождения цитокинов или нейротрофических факторов, влияющих на гибель или выживание нейронов.

Адаптировано из [58].

Расшифровка аббревиатур:

IL1 β (от англ. interleukin 1 beta) – интерлейкин 1 бета

TNF β (от англ. tumor necrosis factor beta) – фактор некроза опухоли-бета

C1q – C1q-компонент системы комплемента

CCL2 (от англ. C-C motif ligand 2) – цитокин, относится к группе CC-хемокинов (β -хемокинов)

CX3CL1 (от англ. chemokine (C-X3-C motif) ligand 1) – фракталин, белок, кодирующийся CX3CL1 геном

CX3CL10 (от англ. chemokine (C-X3-C motif) ligand 1) – белок подгруппы хемокинов CX3C

GM-CSF (от англ. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

IL1 (от англ. interleukin-1) – интерлейкин 1

Дальнейшие исследования будут способствовать полноценному пониманию механизма нейровоспаления при глаукоме; разработке биологических маркеров для диагностики и мониторинга патологического процесса, стратегии таргетной терапии (подходов к управлению локальной воспалительной реакцией на уровне взаимопереходов

M1 и M2 фенотипов микроглии и т.д.) нейродегенеративных заболеваний сетчатки.

Конфликт интересов: отсутствует

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Литература

- Casson R.J., Chidlow G., Wood J.P. et al. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clin Exp Ophthalmol.* 2012; 40(4): 341-349. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02773.x.
- Tham Y.C., Li X., Wong T.Y. et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology.* 2014; 121(11): 2081-2090. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
- Terminology and guidelines for glaucoma. European Glaucoma Society, 2008. 3rd ed. Editrice Dogma Srl., Savona, Italy, 183 p.
- Anderson D.R. Normal-tension glaucoma (Low-tension glaucoma). *Indian J Ophthalmol.* 2011; 59 Suppl(Suppl1): 97-101. doi: 10.4103/0301-4738.73695.
- Cordeiro M.F., Levin L.A. Clinical evidence for neuroprotection in glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2011; 152(5): 715-716. doi: 10.1016/j.ajo.2011.06.015.
- Jiang S., Kametani M., Chen D.F. Adaptive Immunity: New Aspects of Pathogenesis Underlying Neurodegeneration in Glaucoma and Optic Neuropathy. *Front Immunol.* 2020; 11: 65. doi: 10.3389/fimmu.2020.00065.
- Grus F.H., Joachim S.C., Wuenschig D., et al. Autoimmunity and glaucoma. *J Glaucoma.* 2008; 17(1): 79-84. doi: 10.1097/IJG.0b013e318156a592.
- Yang X., Zeng Q., Goktas E. et al. T-Lymphocyte Subset Distribution and Activity in Patients With Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019; 60(4): 877-888. doi: 10.1167/iovs.18-26129.
- Yang J., Patil R.V., Yu H. et al. T cell subsets and sIL-2R/IL-2 levels in patients with glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2001; 131(4): 421-426. doi: 10.1016/s0002-9394(00)00862-x.
- Janeway C.A. Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002; 20: 197-216. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359.
- Kumar H., Kawai T., Akira S. Pathogen recognition in the innate immune response. *Biochem J.* 2009; 420(1): 1-16. doi: 10.1042/BJ20090272.
- Sharma D., Kanneganti T.D. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *J Cell Biol.* 2016; 213(6): 617-629. doi: 10.1083/jcb.201602089.
- Oviedo-Boyso J., Bravo-Patino A., Baizabal-Aguirre V.M. Collaborative action of Toll-like and NOD-like receptors as modulators of the inflammatory response to pathogenic bacteria. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 432785. doi: 10.1155/2014/432785.
- Ioannidis I., Ye F., McNally B., et al. Toll-like receptor expression and induction of type I and type III interferons in primary airway epithelial cells. *J Virol.* 2013; 87(6): 3261-3270. doi: 10.1128/JVI.01956-12.
- Stewart E.A., Wei R., Branch M.J., et al. Expression of Toll-like receptors in human retinal and choroidal vascular endothelial cells. *Exp Eye Res.* 2015; 138: 114-123. doi: 10.1016/j.exer.2015.06.012.
- Kumar M.V., Nagineni C.N., Chin M.S., et al. Innate immunity in the retina: Toll-like receptor (TLR) signaling in human retinal pigment epithelial cells. *J Neuroimmunol.* 2004; 153(1-2): 7-15. doi: 10.1016/j.jneuroim.2004.04.018.
- Tu Z., Portillo J.A., Howell S., et al. Photoreceptor cells constitutively express functional TLR4. *J Neuroimmunol.* 2011; 230(1-2): 183-187. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.07.022.
- Kumar A., Shamsuddin N. Retinal Muller glia initiate innate response to infectious stimuli via toll-like receptor signaling. *PLoS One.* 2012; 7(1): e29830. doi: 10.1371/journal.pone.0029830.
- Ko M.K., Saraswathy S., Parikh J.G., et al. The role of TLR4 activation in photoreceptor mitochondrial oxidative stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52(8): 5824-5835. doi: 10.1167/iovs.10-6357.
- Kochan T., Singla A., Tosi J., et al. Toll-like receptor 2 ligand pretreatment attenuates retinal microglial inflammatory response but enhances phagocytic activity toward *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 2012; 80(6): 2076-2088. doi: 10.1128/IAI.00149-12.
- Cioanca A.V., McCluskey P.J., Eamegdool S.S., et al. Human choroidal melanocytes express functional Toll-like receptors (TLRs). *Exp Eye Res.* 2018; 173: 73-84. doi: 10.1016/j.exer.2018.04.014.
- Lee M.T., Hooper L.C., Kump L., et al. Interferon-beta and adhesion molecules (E-selectin and s-intracellular adhesion molecule-1) are detected in sera from patients with retinal vasculitis and are induced in retinal vascular endothelial cells by Toll-like receptor 3 signalling. *Clin Exp Immunol.* 2007; 147(1): 71-80. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03253.x.
- Luo C., Yang X., Kain A.D., et al. Glaucomatous tissue stress and the regulation of immune response through glial Toll-like receptor signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51(11): 5697-5707. doi: 10.1167/iovs.10-5407.
- Morzaev D., Nicholson J.D., Caspi T., et al. Toll-like receptor-4 knockout mice are more resistant to optic nerve crush damage than wild-type mice. *Clin Exp Ophthalmol.* 2015; 43(7): 655-665. doi: 10.1111/ceo.12521.
- Xu Y., Yang B., Hu Y., et al. Wogonin prevents TLR4-NF- κ B-mediated neuroinflammation and improves retinal ganglion cells survival in retina after optic nerve crush. *Oncotarget.* 2016; 7(45): 72503-72517. doi: 10.18632/oncotarget.12700.
- Dean D.O., Tytell M. Hsp25 and -90 immunoreactivity in the normal rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42(12): 3031-3040.
- Kalesnykas G., Niittykoski M., Rantala J. et al. The expression of heat shock protein 27 in retinal ganglion and glial cells in a rat glaucoma model. *Neuroscience.* 2007; 150(3): 692-704. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.09.078.
- Huang W., Fileta J.B., Filippopoulos T., et al. Hsp27 phosphorylation in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48(9): 4129-4135. doi: 10.1167/iovs.06-0606.
- Tezel G., Hernandez R., Wax M.B. Immunostaining of heat shock proteins in the retina and optic nerve head of normal and

- glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol.* 2000; 118(4): 511-518. doi: 10.1001/archoph.118.4.511.
30. Wang G.H., Xing Y.Q. Evaluation of heat shock protein (HSP-72) expression in retinal ganglion cells of rats with glaucoma. *Exp Ther Med.* 2017; 14(2): 1577-1581. doi: 10.3892/etm.2017.4635.
31. Harris H.E., Andersson U., Pisetsky D.S. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8(4): 195-202. doi: 10.1038/nrrheum.2011.222.
32. Dvorianchikova G., Hernandez E., Grant J., et al. The high-mobility group box-1 nuclear factor mediates retinal injury after ischemia reperfusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52(10): 7187-7194. doi: 10.1167/iovs.11-7793.
33. Bohm M.R., Schallenberg M., Brockhaus K. et al. The pro-inflammatory role of high-mobility group box 1 protein (HMGB-1) in photoreceptors and retinal explants exposed to elevated pressure. *Lab Invest.* 2016; 96(4): 409-427. doi: 10.1038/labinvest.2015.156.
34. He W., Xu F., Chen L. et al. Association of High-Mobility Group Box-1 with Inflammation-Related Cytokines in the Aqueous Humor with Acute Primary Angle-Closure eyes. *Curr Mol Med.* 2020; 20: 1. doi: 10.2174/1566524020666200413113107.
35. Schallenberg M., Melkonyan H., Thanos S. Hmgb-1 Induces Apoptosis In Retinal Ganglion Cells And Intraretinal Inflammation By Activation Of Tlr4 And Cytokine Release. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53(14): 6315-6315.
36. Barile G.R., Schmidt A.M. RAGE and its ligands in retinal disease. *Curr Mol Med.* 2007; 7(8): 758-765. doi: 10.2174/156652407783220778.
37. Tezel G., Luo C., Yang X. Accelerated aging in glaucoma: immunohistochemical assessment of advanced glycation end products in the human retina and optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48(3): 1201-1211. doi:10.1167/iovs.06-0737
38. Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010; 140(6): 805-820. doi:10.1016/j.cell.2010.01.022
39. Takagi M., Takakubo Y., Pajarinen J. et al. Danger of frustrated sensors: Role of Toll-like receptors and NOD-like receptors in aseptic and septic inflammations around total hip replacements. *J Orthop Translat.* 2017; 10: 68-85. doi:10.1016/j.jot.2017.05.004
40. Williams A., Flavell R.A., Eisenbarth S.C. The role of NOD-like Receptors in shaping adaptive immunity. *Curr Opin Immunol.* 2010; 22(1): 34-40. doi:10.1016/j.coi.2010.01.004
41. Embry C.A., Franchi L., Nunez G., Mitchell T.C. Mechanism of impaired NLRP3 inflammasome priming by monophosphoryl lipid A. *Sci Signal.* 2011; 4(171): ra28. doi:10.1126/scisignal.2001486
42. Martinon F., Petrilli V., Mayor A., et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature.* 2006; 440(7081): 237-241. doi:10.1038/nature04516.
43. Duewell P., Kono H., Rayner K.J. et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature.* 2010; 464(7293): 1357-1361. doi:10.1038/nature08938.
44. Kanneganti T.D., Ozoren N., Body-Malapel M., et al. Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3. *Nature.* 2006; 440(7081): 233-236. doi:10.1038/nature04517.
45. Masters S.L., Dunne A., Subramanian S.L. et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes. *Nat Immunol.* 2010; 11(10): 897-904. doi:10.1038/ni.1935.
46. Netea M.G., Nold-Petry C.A., Nold M.F. et al. Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL-1beta in monocytes and macrophages. *Blood.* 2009; 113(10): 2324-2335. doi:10.1182/blood-2008-03-146720.
47. Piccini A., Carta S., Tassi S., et al. ATP is released by monocytes stimulated with pathogen-sensing receptor ligands and induces IL-1beta and IL-18 secretion in an autocrine way. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(23): 8067-8072. doi:10.1073/pnas.0709684105
48. Di Virgilio F., Dal Ben D., Sarti A.C., et al. The P2X7 Receptor in Infection and Inflammation. *Immunity.* 2017; 47(1): 15-31. doi:10.1016/j.immuni.2017.06.020.
49. Chi W., Li F., Chen H., et al. Caspase-8 promotes NLRP1/NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β production in acute glaucoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014; 111(30): 11181-11186. doi:10.1073/pnas.1402819111.
50. Chi W., Chen H., Li F., et al. HMGB1 promotes the activation of NLRP3 and caspase-8 inflammasomes via NF-kappaB pathway in acute glaucoma. *J Neuroinflammation.* 2015; 12: 137. doi:10.1186/s12974-015-0360-2.
51. Ramirez J.M., Trivino A., Ramirez A.I., et al. (1998) Organization and Function of Astrocytes in Human Retina. In: Castellano B., Gonzalez B., Nieto-Sampedro M. (eds) *Understanding Glial Cells.* Springer, Boston, MA. doi: 10.1007/978-1-4615-5737-1_3.
52. Langmann T. Microglia activation in retinal degeneration. *J Leukoc Biol.* 2007; 81(6): 1345-1351. doi:10.1189/jlb.0207114.
53. Gonzalez H., Elgueta D., Montoya A., et al. Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *J Neuroimmunol.* 2014; 274(1-2): 1-13. doi:10.1016/j.jneuroim.2014.07.012.
54. Tang Y., Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol.* 2016; 53(2): 1181-1194. doi:10.1007/s12035-014-9070-5.
55. Ramirez A.I., de Hoz R., Salobar-Garcia E. et al. The Role of Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma. *Front Aging Neurosci.* 2017; 9: 214. Published 2017 Jul 6. doi:10.3389/fnagi.2017.00214.
56. Liddelow S.A., Guttenplan K.A., Clarke L.E., et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017; 541(7638): 481-487. doi:10.1038/nature21029
57. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010; 119(1): 7-35. doi:10.1007/s00401-009-0619-8.
58. Wei X., Cho K.S., Thee E.F. et al. Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift. *J Neurosci Res.* 2019; 97(1): 70-76. doi:10.1002/jnr.24256.
59. Ebnetter A., Casson R.J., Wood J.P. et al. Microglial activation in the visual pathway in experimental glaucoma: spatiotemporal characterization and correlation with axonal injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51(12): 6448-6460. doi:10.1167/iovs.10-5284.

Сведения об авторах:

Н.В. Балацкая – канд. биол. наук, начальник отдела иммунологии и вирусологии

С.Ю. Петров – д-р мед. наук, начальник отдела глаукомы

В.И. Котелин – аспирант отдела глаукомы, тел. +79651351991

ФГБУ «НИИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, 105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, E-mail: vikotelin@ya.ru

Поступила 17.12.2020 г.