

СЛЕЗА КАК ИСТОЧНИК ИММУННЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ ЛИМФОМАХ СЛЕЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Амирян А.Г., Саакян С.В., Балацкая Н.В., Гусакова М.Ю.*,
Сорожкина Е.С.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

DOI: 10.25881/20728255_2025_20_4_S1_21

Резюме. Лимфомы придаточного аппарата глаза составляют около 8% экстранодальных лимфом, из них 7–26% приходится на слезную железу. Лимфома слезной железы (ЛСЖ) чаще выявляется у пожилых, преимущественно у женщин. Преобладают В-клеточные формы, а наиболее распространенным ее подтипом является мукозассоциированная лимфома (MALT-лимфома). Диагностика ЛСЖ затруднена из-за клинико-лучевой мимикрии, в связи с чем анализ слезной жидкости (СЖ) как доступной «жидкостной биопсии» приобретает практическую ценность. Цель исследования – изучить профиль 7 ключевых цитокинов (IL-6, TNF- α , IL-2, IFN- γ , IL-17A, IL-4 и IL-10) в СЖ пациентов с ЛСЖ и оценить их диагностическую информативность. Материал и методы. Группу патологии составили 8 пациентов с гистологически верифицированной ЛСЖ (средний возраст $56,5 \pm 10,6$ года; 75% женщин; двусторонний процесс – 25%; генерализованное поражение – 12,5%): MALT-лимфома – 5, фолликулярная – 2, мантийноклеточная – 1. Группу контроля составили 10 здоровых добровольцев. Забор СЖ проводился в утренние часы на этапе предоперационной подготовки в объеме не менее 50 мкл (из обоих глаз при ЛСЖ и одного глаза в контрольной группе). Частота встречаемости и концентрации цитокинов определялись методом мультиплексного иммунного анализа. Результаты сопоставлялись между группами с проведением статистического анализа.

Результаты. При ЛСЖ в СЖ пораженного глаза возрастает частота выявления всех цитокинов (для IL-6, IL-2 и IL-17A – до 100%) и повышаются их уровни по сравнению с контролем; на контралатеральной стороне заметно растут лишь IL-6 и IFN- γ , для IL-17A – умеренный прирост. Статистически значимые различия с контролем отмечены для всех цитокинов на стороне патологии, а между сторонами – для IL-6, TNF- α , IL-2 и IL-4 ($p < 0,05$).

Заключение. Анализ профиля цитокинов СЖ при ЛСЖ может стать перспективным направлением исследования не только в разработке неинвазивных методов дифференциальной диагностики, но и терапевтических подходов путем таргетного воздействия на процессы канцерогенеза, опухолевого роста и прогрессирования.

Ключевые слова: слезная жидкость, слезная железа, лимфома слезной железы, MALT-лимфома, иммунология, цитокины.

Введение

Лимфомы придаточного аппарата глаза составляют примерно 8% экстранодальных лимфом, а на долю поражения слезной железы приходится 7–26%. Лимфома слезной железы (ЛСЖ) преимущественно встречается у пожилых пациентов, чаще у женщин. При данной локализации преобладает В-клеточная природа процесса, а наиболее частым подтипом является MALT-лимфома – медленно прогрессирующее новообразование, развивающееся из мукозассоциированной лимфоидной ткани, которая накапливается в результате хронического воспаления, длительной антигенной стимуляции и/или аутоиммунных механизмов. Более редкими подтипами являются фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны и диффузная В-крупноклеточная лимфома [1–3]. Диагностика ЛСЖ затруднена из-за

TEAR FLUID AS A SOURCE OF IMMUNE BIOMARKERS IN LACRIMAL GLAND LYMPHOMAS

Amiryan A.G., Saakyan S.V., Balackaya N.V., Gusakova M.Yu.*,
Sorozhkina E.S.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow

Abstract. Adnexal lymphoma account for about 8% of extranodal lymphomas, with the lacrimal gland involved in 7–26% of cases. Lacrimal gland lymphoma (LGL) is more commonly diagnosed in older individuals, predominantly women. B-cell subtypes predominate, with MALT lymphoma being the most frequent. Diagnosis is challenging due to clinico-radiologic mimicry; therefore, analysis of tear fluid (TF) as an accessible “liquid biopsy” has practical value. Objective: to examine the profile of 7 key cytokines (IL-6, TNF- α , IL-2, IFN- γ , IL-17A, IL-4, IL-10) in TF of patients with LGL and assess their diagnostic informativeness. Methods: The pathology group included 8 patients with histologically verified LGL (mean age $56,5 \pm 10,6$ years; 75% women; bilateral disease – 25%; generalized involvement – 12,5%): MALT lymphoma – 5, follicular – 2, mantle cell – 1. The control group comprised 10 healthy volunteers. TF was collected in the morning during preoperative preparation, $\geq 50 \mu\text{L}$ (both eyes in LGL; one eye in controls). Detection frequency and concentrations of cytokines were determined by multiplex immunoassay. Results were compared between groups using statistical analysis.

Results. In the affected eye of LGL patients, the detection frequency of all cytokines increased (reaching 100% for IL-6, IL-2, and IL-17A) and their levels were higher versus controls. On the contralateral, clinically healthy side, increases were evident mainly for IL-6 and IFN- γ , with a modest rise for IL-17A. Statistically significant differences from controls were observed for all cytokines on the affected side, and between sides for IL-6, TNF- α , IL-2, and IL-4 ($p < 0,05$).

Conclusion. Profiling TF cytokines in LGL is a promising direction not only for developing noninvasive differential diagnostic tools but also for informing targeted therapeutic approaches aimed at key mechanisms of carcinogenesis, tumor growth, and progression.

Keywords: tear fluid, lacrimal gland, lacrimal gland lymphoma, MALT lymphoma, immunology, cytokines.

клинической и лучевой мимикрии: хронический дакриoadенит, идиопатическое воспаление и ряд эпителиальных опухолей могут иметь схожую симптоматику и частично совпадающие признаки по данным визуализирующих методов исследования. На этом фоне изучение локальных медиаторов иммунного ответа в слезной жидкости (СЖ) приобретает прикладную значимость. СЖ доступна для неинвазивного стандартизированного забора и находится в непосредственной близости от зоны поражения, что позволяет рассматривать ее как матрицу для оценки микросреды опухоли в формате «жидкостной биопсии» глаза.

Цель исследования – изучить профиль 7 ключевых цитокинов (IL-6, TNF- α , IL-2, IFN- γ , IL-17A, IL-4 и IL-10) в СЖ пациентов с ЛСЖ и оценить их диагностическую информативность.

* e-mail: mashaguille@mail.ru

Материал и методы

Группу патологии составили 8 пациентов с гистологически верифицированной ЛСЖ. Средний возраст составил $56,5 \pm 10,6$ лет (39–70), преобладали женщины (75%). По данным клинко-инструментального обследования у 2 пациентов (25%) выявлен двусторонний процесс, у 1 (12,5%) – генерализованное поражение. В 5 случаях диагностирована МАЛТ-лимфома, в остальных – фолликулярная лимфома ($n = 2$) и мантийноклеточная лимфома ($n = 1$). Группу контроля составили 10 здоровых добровольцев. Все пациенты прошли комплексное офтальмологическое обследование с оценкой орбитального статуса и осмотром на предмет поражения регионарных лимфатических узлов. Из визуализирующих методов применяли компьютерную томографию и комплексное ультразвуковое исследование орбит. Для минимизации физиологических суточных колебаний уровней цитокинов забор СЖ проводили в утренние часы на этапе предоперационной подготовки, до какого-либо офтальмологического вмешательства и инстилляций лекарственных средств. СЖ получали из обоих глаз пациентов с ЛСЖ и из одного глаза здоровых добровольцев в объеме не менее 50 мкл с использованием спринцовки со стерильным наконечником. До проведения исследований пробы хранились при температуре -70°C . Всем пациентам впоследствии выполнена орбитотомия. Всего в иммунологические исследования включены 26 проб СЖ. Определение качественного и количественного содержания цитокинов выполняли методом проточной цитофлуориметрии на BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием набора IFN- γ /IL-2/IL-4/IL-6/IL-10/IL-17A/TNF α Multiplex Detection Kits (Immunofluorescence Luminescence, Китай) согласно инструкции производителя. Первичную обработку данных проводили в программе FACSDiva, расчет концентраций по калибровочным кривым – в FlowCytomix Pro 2.3. Качественные данные представлены в процентах, количественные – в виде медианы и диапазона. Для сравнения групп применяли непараметрические критерии Манна-Уитни, Уилкоксона, Крускала-Уоллиса (χ^2) и их значимость. Статистическая значимость принималась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Нами выявлено, при ЛСЖ в СЖ пораженного глаза отмечается рост частоты выявления всех исследованных цитокинов по сравнению с контролем, при этом для IL-6, IL-2 и IL-17A частота достигает 100%. На контралатеральной, клинически здоровой стороне, увеличивается лишь частота выявления IL-6 и IFN- γ , а для IL-17A наблюдается умеренный прирост. Примечательно, что в группе контроля IFN- γ не определялся вовсе, тогда как при ЛСЖ его детекция составила 60%, а на противоположной стороне – 30% (Таблица 1).

По уровням цитокинов отмечено повышение всех исследованных показателей в СЖ пораженного глаза по сравнению с контролем. На контралатеральной стороне

Табл. 1. Частота выявления и концентрация цитокинов, определяемых в СЖ при ЛСЖ по сравнению с контрольной группой

Цитокины	Лимфома слезной железы		Контроль
	СЖ (б)**	ЗС (з)***	СЖ
	Частота выявления (%) Медиана в pg/ml (min-max)		
IL-6	100 % 73,6 (5,48–682,3)	60 % 44,6 (29–60,7)	10 % 2,9 (0,9–4,8)
χ^2 , p-значимость	12,2 $p = 0,002^*$		
TNF- α	90 % 1,4 (0,27–24,9)	60 % 0,5 (0,18–19,4)	60 % 0,4 (1,0–1,6)
χ^2 , p-значимость	7,3 $p = 0,03^*$		
IL-2	100 % 0,6 (0,2–1,4)	60 % 0,3 (0,05–0,8)	60 % 0,3 (0,08–0,8)
χ^2 , p-значимость	8,8 $p = 0,01^*$		
IFN- γ	60 % 0,7 (0,3–1,0)	30 % 0,5 (0,4–1,1)	0 % –
χ^2 , p-значимость	8,0 $p = 0,02^*$		
IL-17A	100 % 1,3 (0,3–4,8)	60 % 0,6 (0,1–2,9)	50 % 0,4 (0,06–0,7)
χ^2 , p-значимость	10,6 $p = 0,005^*$		
IL-4	80 % 0,1 (0,05–0,8)	30 % 0,3 (0,2–1,0)	33 % 0,05 (0,05–0,1)
χ^2 , p-значимость	5,4 $p = 0,06$		
IL-10	90 % 0,9 (0,1–0,6)	60 % 0,8 (0,2–4,2)	60 % 0,2 (0,07–0,6)
χ^2 , p-значимость	5,3 $p = 0,07$		

Примечание: * – статистически значимые значения ($p < 0,05$),

** (б) – сторона патологии, *** (з) – здоровая сторона.

наибольший прирост относительно контроля продемонстрировал IL-6, тогда как изменения остальных маркеров были минимальными. Статистический анализ выявил значимые различия между группой ЛСЖ и контролем для всех цитокинов на стороне патологии, а также между пораженной и здоровой сторонами для IL-6, TNF- α , IL-2 и IL-4 ($p < 0,05$).

Полученные данные отражают локальную активацию воспалительных и иммунорегуляторных путей в СЖ при ЛСЖ. Вероятными источниками цитокинов являются опухолевые В-клетки и реактивные иммунные клетки микросреды, активируемые хронической антигенной стимуляцией с вовлечением путей NF- κ B/JAK-STAT [4]. Инфильтрация слезной железы нарушает функцию ацинарно-протокового эпителия и микрососудов, усиливая транзит медиаторов в СЖ и поддерживая воспалительно-ангиогенный контур.

Исследование цитокинового профиля приобретает все большее значение как инструмент персонализированной онкологии. Определение уровней ключевых провоспалительных и иммуномодулирующих молекул в СЖ

пациента может позволить более точно охарактеризовать биологические свойства опухоли, выявить прогностически значимые иммунные сигнатуры, а также предсказать эффективность проведения иммунотерапии, включая ингибиторы контрольных точек, препараты на основе Т-клеток и антицитокиновую терапию [5]. В литературе встречается ряд исследований, посвященных изучению цитокинового профиля в СЖ, но меньшая часть из них посвящена диагностике офтальмопатологии, а также воспалительным и аутоиммунным заболеваниям орбиты. Так, в исследовании, посвященном изучению пациентов с увеальной меланомой, отмечено повышение концентраций 12 провоспалительных цитокинов, среди которых IL-6, IL-17A и TNF- α играли ведущую роль. Кроме того, зафиксировано увеличение уровней VEGF-A и SDF-1 α , что свидетельствует об активации ангиогенеза и ремоделирования сосудистой сети в условиях опухолевого воспаления [6]. В исследовании, посвященном анализу цитокинового профиля СЖ пациентов с В-клеточной лимфомой придаточного аппарата глаза из экстра nodальной маргинальной зоны (включая лимфому конъюнктивы и слезной железы), выявлено значительное повышение концентраций таких цитокинов, как IL-1RA и IL-8. Кроме того, установлена положительная корреляция между уровнем IL-8 и поражением слезной железы [7]. В работе Ang T. и соавт., посвященной анализу цитокинового профиля СЖ при воспалительных заболеваниях орбиты (включая неспецифическое воспаление орбиты, IgG4-ассоциированное заболевание, гранулематоз с полиангиитом, а также вирусный и бактериальный дакриoadениты и др.), IL-6 был выделен как чувствительный маркер локального воспаления, особенно при дакриoadените [8]. Дополнительные данные получены при исследовании пациентов с эндокринной офтальмопатией: уровни IL-1 β , IL-6 и IL-17A в СЖ увеличивались по мере увеличения шкалы клинической активности (CAS), что указывает на возможность использования этих цитокинов в качестве маркеров активности заболевания [9].

Заключение

Таким образом, СЖ может рассматриваться как перспективный источник неинвазивных биомаркеров в диагностике ЛСЖ. Определение цитокинового профиля СЖ на этапе предоперационного обследования пациентов может повысить диагностическую точность, улучшить стратификацию риска и способствовать индивидуализации подходов к лечению.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Freeman C, Berg JW, Cutler SJ. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. *Cancer*. 1972;29:252–60v
2. von Holstein S.L., Therkildsen M.H., Prause J.U., Stenman G., Siersma V.D., Heegaard S. Lacrimal lesions in Denmark between 1974 and 2007. *Acta Ophthalmol*. 2013; 91 (4): 349–354.
3. Гришина Е.Е., Гузенко Е.С. Первичные неходжкинские лимфомы органа зрения. Влияние метода лечения на прогноз. *Офтальмология*. 2013;10(1):41–46. Grishina E.E., Guzenko E.S. Primary Non-Hodgkin's Lymphomas of the Eye. The Influence of Treatment Method on the Prognosis.
4. Jardin F. NFkB Pathway and Hodgkin Lymphoma. *Biomedicines*. 2022 Sep 1;10(9):2153. doi: 10.3390/biomedicines10092153. PMID: 36140254; PMCID: PMC9495867.
5. В.В. Нероев, С.В. Саакян, Л.А. Катаргина, Н.В. Балацкая, И.Г. Куликова, Е.Б. Мякошина. Особенности состава цитокинов различного биологического действия у пациентов с увеальной меланомой: локальные изменения в слезной жидкости. Часть 1 // *Офтальмология*. – 2022. – Т.19, №1. – С.156–166. V.V. Neroev, S.V. Saakyan, L.A. Katargina, N.V. Balatskaya, I.G. Kulikova, and E.B. Myakoshina. Features of the composition of cytokines with different biological effects in patients with uveal melanoma: local changes in tear fluid.
6. Xiao W, Chen J, Ye H, et al. Tear cytokine profiles in patients with extranodal marginal zone B-cell lymphoma of the ocular adnexa. *Eye (Lond)*. 2022;36(7):1396–1402. doi:10.1038/s41433-021-01650-7
7. Ang T, Tong JY, Quigley C, Selva D. Tear inflammatory cytokine profiles in orbital inflammatory disease. *Exp Eye Res*. 2025 Feb;251:110205
8. Huang D, Luo Q, Yang H, Mao Y. Changes of Lacrimal Gland and Tear Inflammatory Cytokines in Thyroid-Associated Ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(8):4935–4943. doi:10.1167/iovs.13-13704