

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

ДИНАМИКА ЛОКАЛЬНОГО ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ НА ФОНЕ ПЕРСониФИЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Дениско М.С.,
Жигальская Т.А.,
Кривошеина О.И.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет»
Минздрава России (634050, г. Томск,
Московский тракт, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дениско Марьяна Сергеевна,
e-mail: m.s.sharova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Активное развитие офтальмохирургии обуславливает увеличение числа пациентов с эндотелиально-эпителиальной дистрофией (ЭЭД) роговицы, роль цитокинов в патогенезе которой остаётся недостаточно изученной.

Цель исследования: изучить динамику локального цитокинового профиля при ЭЭД роговицы в условиях персонифицированного лечения с использованием суспензии аутологичных мононуклеаров крови.

Материал и методы. Сформировано две группы больных с ЭЭД роговицы: основная (30 человек, 30 глаз), получившая интрастромальное введение суспензии аутологичных мононуклеаров крови, и сравнения (28 человек, 28 глаз), получившая курс фармакотерапии. В слёзной жидкости (СЖ) больного глаза определяли уровень интерлейкинов (IL) – IL-10, IL-4, IL-6, IL-1 β , трансформирующего фактора роста бета-2 (TGF- β 2), transforming growth factor β 2), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor α) методом иммуноферментного анализа.

Результаты. У всех пациентов до лечения в СЖ выявлено повышение IL-1 β в 3,3 раза, IL-6 – в 4,2 раза, TNF- α – в 2,0 раза ($p < 0,05$); увеличение уровней IL-4, IL-10 и TGF- β 2 в 1,1 раза ($p > 0,05$). В основной группе после лечения отмечено снижение IL-1 β в 2,0 раза, IL-6 – в 2,1 раза и TNF- α – в 1,8 раза; повышение IL-10 в 1,5 раза, IL-4 – в 1,9 раза, TGF- β 2 – в 1,4 раза ($p < 0,05$), сохраняющееся в течение 12 мес. В группе сравнения отмечено краткосрочное снижение IL-1 β в 1,7 раза, IL-6 и TNF- α – в 1,2 раза; увеличение уровней IL-10, IL-4, TGF- β 2 в 1,2 раза ($p < 0,05$), которые затем достигли первоначальных значений.

Заключение. Выявлен дисбаланс в СЖ в системе про- и противовоспалительных цитокинов при ЭЭД роговицы. Интрастромальное введение аутологичных мононуклеаров уменьшает выраженность дисбаланса локальной цитокиновой системы по сравнению с курсом фармакотерапии.

Ключевые слова: эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы, клеточные технологии, аутологичные мононуклеарные лейкоциты, цитокины

Статья получена: 28.03.2022

Статья принята: 27.12.2022

Статья опубликована: 02.03.2023

Для цитирования: Дениско М.С., Жигальская Т.А., Кривошеина О.И. Динамика локального цитокинового профиля при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы на фоне персонифицированной терапии с использованием клеточных технологий. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 127-133. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.14

FEATURES OF THE LOCAL CYTOKINE PROFILE OF PATIENTS WITH BULLOUS KERATOPATHY BY USING PERSONALIZED THERAPY WITH CELLULAR TECHNOLOGIES

Denisko M.S.,
Zhigalskaya T.A.,
Krivosheina O.I.

Siberian State Medical University
(Moskovskiy tract 2, Tomsk, 634050,
Russian Federation)

Corresponding author:
Maryana S. Denisko,
e-mail: m.s.sharova@mail.ru

ABSTRACT

Background. Today we have active development of ophthalmic surgery, but the role of cytokines in the pathogenesis of bullous keratopathy of the cornea remains insufficiently studied at present.

The aim. To study the dynamics of the local cytokine profile in bullous keratopathy by using personalized treatment with suspension of autologous blood mononuclears. **Material and methods.** Two groups of patients with bullous keratopathy were formed: the main group (30 people, 30 eyes), who received an intrastromal injection of a suspension of autologous blood mononuclears and comparison (28 people, 28 eyes), who received a course of pharmacotherapy. The level of interleukins (IL) – IL-10, IL-4, IL-6, IL-1 β , transforming growth factor beta-2 (TGF- β 2), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) was determined in the lacrimal fluid of the patient's eye by enzyme immunoassay.

Results. All patients before treatment showed an increase of IL-1 β in the lacrimal fluid by 3.3 times, IL-6 – by 4.2 times, TNF- α – by 2.0 times ($p < 0.05$); an increase in the level of IL-4, IL-10 and TGF- β 2 by 1.1 times ($p > 0.05$). In the main group, after treatment, there was a decrease in IL-1 β by 2.0 times, IL-6 – by 2.1 times and TNF- α – by 1.8 times, and an increase in IL-10 by 1.5 times, IL-4 – by 1.9 times, TGF- β 2 – by 1.4 times ($p < 0.05$), persisting for 12 months. There was a short-term decrease of IL-1 β by 1.7 times, IL-6 and TNF- α – by 1.2 times and an increase of IL-10, IL-4, TGF- β 2 by 1.2 times ($p < 0.05$) in the comparison group which then reached the initial values. **Conclusion.** There is an imbalance in the system of pro- and anti-inflammatory cytokines in bullous keratopathy in the lacrimal fluid. Injection of autologous mononuclear cells in the stroma of the cornea reduces the severity of the imbalance of the local cytokine system compared to the course of pharmacotherapy.

Key words: bullous keratopathy, cellular technologies, autologous mononuclear leukocytes, cytokines

Received: 28.03.2022
Accepted: 27.12.2022
Published: 02.03.2023

For citation: Denisko M.S., Zhigalskaya T.A., Krivosheina O.I. Features of the local cytokine profile of patients with bullous keratopathy by using personalized therapy with cellular technologies. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 127-133. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.14

АКТУАЛЬНОСТЬ

Буллёзная кератопатия или эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) роговицы – это прогрессирующее заболевание роговой оболочки, основным проявлением которого является развитие хронического отёка роговицы и появление болевого синдрома. Согласно современным представлениям [1–3], в основе патогенеза лежит снижение плотности эндотелиальных клеток роговой оболочки, причиной которой может быть травма, предшествующие операции или воспалительные заболевания органа зрения. Перечисленные изменения приводят к увеличению проницаемости эндотелиального слоя роговицы с последующей гидратацией стромы роговой оболочки и дистрофией кератоцитов [4, 5]. В научных публикациях последних лет появляется всё больше данных о роли цитокинов в патогенезе ЭЭД роговицы [6–8]. Однако эти факты в настоящее время имеют разрозненный характер, в связи с чем возникает необходимость детального изучения локального цитокинового статуса при ЭЭД роговицы и разработки новых, с применением клеточных технологий, методов лечения данной патологии роговой оболочки.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить динамику локального цитокинового профиля при ЭЭД роговицы в условиях персонализированного лечения с использованием суспензии аутологичных мононуклеаров крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Представленное клиническое исследование осуществлялось на базе офтальмологической клиники и Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск). Под наблюдением находились 58 пациентов с установленным диагнозом ЭЭД роговицы. Исследование проведено в два этапа. На I этапе исследования изучали цитокиновый профиль слёзной жидкости (СЖ) у больных ЭЭД роговой оболочки. На II этапе апробировали в клинической практике разработанный метод хирургического лечения ЭЭД роговицы с использованием клеточных технологий и проводили оценку его эффективности в сравнении с фармакотерапией. Утверждение клинического исследования было проведено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (регистрационный номер № 5598, от 06.11.2017). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие перед началом лечения.

Критерии включения в исследование: установленный диагноз буллёзной стадии ЭЭД роговицы (по классификации В.В. Волкова, М.М. Дронова, 1978 г.), возраст от 18 до 85 лет. Критерии исключения: наличие общесоматических заболеваний в стадии декомпенсации, наличие психических заболеваний, возраст младше 18 лет,

наличие острых и хронических воспалительных заболеваний органа зрения в стадии обострения, монофтальм, беременность и период лактации.

Для изучения локального цитокинового профиля при ЭЭД роговицы у пациентов (58 пациентов, 58 глаз) на I этапе клинического исследования осуществляли забор СЖ из нижнего конъюнктивального свода больного глаза. Для забора биоматериала использовали автоматический пипеточный дозатор. СЖ забирали в течение 10 мин из нижнего конъюнктивального свода без предварительной стимуляции. Для исследования полученных образцов методом иммуноферментного анализа (ИФА) были выбраны следующие виды цитокинов: интерлейкины (IL) – IL-4, IL-10, IL-1 β , IL-6, фактор некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor α), трансформирующий фактор роста бета-2 (TGF- β 2, transforming growth factor β 2). Определение содержания цитокинов проводили согласно приложенным инструкциям к тест-системам: IL-10, IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α – «Вектор Бест» (Россия), TGF- β 2 – «Bender MedSystems» (Австрия). Результаты ИФА регистрировались на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм.

Для проведения II этапа клинического исследования все пациенты (58 человек) в зависимости от планируемого лечения были разделены на две группы: основную и сравнения. Основная группа пациентов (30 человек, 30 глаз) получила персонализированное хирургическое лечение ЭЭД роговицы путём создания локальной отслойки десцеметовой мембраны за счёт введения в заднюю треть роговой оболочки стерильного воздуха с последующим введением в зону отслоенной десцеметовой оболочки 0,3–0,4 мл свежевыделенной суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов крови (патент на изобретение № 2674237 от 05.12.2018). Хирургическая манипуляция выполнялась однократно. В послеоперационном периоде пациенты с целью профилактики присоединения вторичной инфекции получали инстилляции 0,3%-го раствора (р-ра) тобрамицина 4 раза в день в течение 7 дней.

Пациенты группы сравнения (28 человек, 28 глаз) получили курс фармакотерапии, включающий субконъюнктивальные инъекции 0,01%-го р-ра рибофлавина 1 раз в день, инстилляции 0,01%-го водного р-ра витамина В2, 5%-го геля дексапантенола 4 раза в день в течение 14 дней.

Взятие СЖ из конъюнктивальной полости больного глаза у пациентов обеих групп осуществляли описанным способом на 3-и, 10-е сутки от начала лечения, а также через 1, 3, 6, 9 и 12 мес. после проведённого лечения. Заморозка полученных образцов СЖ проводилась при температуре –20 °С, что обеспечивало возможность их использования в течение трёх месяцев.

Общая продолжительность исследования составила 12 мес.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программы Statistica 13.3 (StatSoft Inc., США). После проверки на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова проводили оценку различий зависимых переменных внутри группы с помощью t-критерия Вилкоксона, различия между группами – с использованием U-критерия Манна – Уитни. Результаты настоящей работы представлены

в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Половозрастное распределение пациентов было следующее. В основную группу вошло 30 пациентов, среди которых 28 женщин и 2 мужчин со средним возрастом 79,4 года, а в группе сравнения – 28 человек, из них – 27 женщин и 1 мужчина ($p > 0,05$) со средним возрастом 77,7 года ($p > 0,05$).

Согласно результатам исследования локального цитокинового профиля у больных ЭЭД роговицы, в образцах СЖ в 100 % случаев до начала лечения выявлено повышение содержания провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, TNF- α . Так, исходный уровень IL-1 β и в основной группе, и в группе сравнения был увеличен в 3,3 раза по сравнению с нормальным значением ($p < 0,05$) [9], уровень IL-6 в обеих группах повышен в 4,2 раза ($p < 0,05$) [10], показатель TNF- α в обеих группах в 2,0 раза превышал нормальное значение ($p < 0,05$) [11] (табл. 1, 2). При этом статистически значимых различий показателей указанных цитокинов у пациентов основной группы и группы сравнения до начала лечения не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 1, 2).

ТАБЛИЦА 1
ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В СЛЁЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ОСНОВНОЙ ГРУППЫ С ЭЭД РОГОВИЦЫ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ, ПГ/МЛ ($M \pm m$)

TABLE 1
THE DYNAMICS OF CYTOKINE LEVEL IN LACRIMAL FLUID IN PATIENTS OF THE MAIN GROUP BEFORE AND AFTER THE TREATMENT, PG/ML ($M \pm m$)

Сроки наблюдения	Цитокины					
	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-4	IL-10	TGF- β 2
Норма	18,2 \pm 3,5	125,3 \pm 11,7	252,6 \pm 11,1	26,3 \pm 7,4	142,4 \pm 5,0	168,5 \pm 25,3
До лечения	59,3 \pm 9,5	523,6 \pm 16,8	497,6 \pm 20,5	29,8 \pm 2,7	156,4 \pm 3,3	184,4 \pm 8,3
3-и сутки	56,4 \pm 7,8*	420,3 \pm 18,6*	354,8 \pm 28,8*	69,4 \pm 4,8*	275,4 \pm 5,2*	207,6 \pm 8,9
10-е сутки	34,2 \pm 5,2*	336,8 \pm 24,6*	320,4 \pm 23,7*	45,4 \pm 3,8*	294,3 \pm 5,6*	205,8 \pm 11,2
1 мес.	29,8 \pm 3,3*	305,4 \pm 23,3*	294,8 \pm 19,2*	42,4 \pm 1,6*	286,9 \pm 4,4*	258,1 \pm 16,1*
3 мес.	33,4 \pm 4,9*	254,3 \pm 24,7*	284,3 \pm 18,94*	39,5 \pm 1,4*	296,3 \pm 3,7*	245,4 \pm 14,7*
6 мес.	32,5 \pm 3,7*	246,8 \pm 25,3*	275,3 \pm 17,5*	40,4 \pm 1,5*	244,8 \pm 4,0*	179,5 \pm 7,9
9 мес.	34,6 \pm 3,8*	236,7 \pm 23,8*	279,6 \pm 15,9*	44,7 \pm 1,4*	232,1 \pm 2,2*	180,3 \pm 8,4
12 мес.	34,9 \pm 3,1*	243,8 \pm 21,3*	278,4 \pm 13,3*	43,2 \pm 1,3*	230,3 \pm 1,8*	182,4 \pm 8,9

Примечание. * – уровень статистической значимости различий по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В СЛЁЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ С ЭЭД РОГОВИЦЫ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ, ПГ/МЛ ($M \pm m$)

TABLE 2
THE DYNAMICS OF CYTOKINE LEVEL IN LACRIMAL FLUID IN PATIENTS OF THE COMPARISON GROUP BEFORE AND AFTER THE TREATMENT PG/ML ($M \pm m$)

Сроки наблюдения	Цитокины					
	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-4	IL-10	TGF- β 2
Норма	18,2 \pm 3,5	125,3 \pm 11,7	252,6 \pm 11,1	26,3 \pm 7,4	142,4 \pm 5,0	168,5 \pm 25,3
До лечения	58,4 \pm 7,9	519,6 \pm 12,2	502,4 \pm 10,5	30,2 \pm 3,0	158,4 \pm 4,3	179,7 \pm 6,1
3-и сутки	57,2 \pm 7,1	495,7 \pm 10,1*	482,3 \pm 12,0	33,5 \pm 3,4	162,5 \pm 4,3	189,3 \pm 9,0
10-е сутки	45,3 \pm 6,7*	478,5 \pm 8,0	435,3 \pm 17,7*	35,6 \pm 3,7*	189,4 \pm 6,8*	195,4 \pm 9,6
1 мес.	35,6 \pm 6,1*	450,6 \pm 13,5*	472,8 \pm 18,4	31,3 \pm 3,3	162,4 \pm 5,1	215,3 \pm 8,5*
3 мес.	39,7 \pm 4,9*	487,5 \pm 17,6	485,3 \pm 15,9	27,8 \pm 2,8	154,3 \pm 5,4	188,3 \pm 7,6
6 мес.	49,3 \pm 4,7*	501,7 \pm 13,4	492,3 \pm 10,2	26,9 \pm 2,7	157,5 \pm 6,5	175,2 \pm 8,9
9 мес.	53,4 \pm 4,5	510,7 \pm 11,2	489,6 \pm 7,4	27,5 \pm 3,0	156,1 \pm 5,6	172,8 \pm 9,4
12 мес.	54,7 \pm 5,9	517,7 \pm 10,4	485,3 \pm 7,3	26,4 \pm 2,3	149,8 \pm 5,9	184,3 \pm 8,2

Примечание. * – уровень статистической значимости различий по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$).

Исходный (до лечения) уровень IL-10, IL-4, TGF- β 2 в СЖ больного глаза у всех пациентов до начала лечения в 1,1 раза превышал нормальное значение [10, 12, 13], что, однако, не было статистически значимым ($p > 0,05$) (табл. 1, 2).

По результатам II этапа исследования, на 3-и сутки от начала лечения у пациентов обеих групп отмечено незначительное, не являющееся статистически значимым, снижение уровня IL-1 β в СЖ больного глаза по сравнению с исходным значением ($p > 0,05$) (табл. 1, 2). На 10-е сутки после лечения новым хирургическим методом с использованием клеточных технологий у пациентов основной группы уровень данного цитокина в СЖ больного глаза уменьшился в 1,7 раза ($p < 0,05$) от первоначального значения (табл. 1), в то время как у пациентов группы сравнения, получавших консервативное лечение, – в 1,3 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 1 мес. после интрастромального введения суспензии аутологичных мононуклеаров крови у пациентов основной группы выявлено максимальное за весь период наблюдения снижение уровня IL-1 β в СЖ – в 2,0 раза по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$) (табл. 1), у пациентов же группы сравнения – в 1,7 раза от исходного уровня ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 3 мес. уровень IL-1 β в СЖ больного глаза у пациентов основной группы незначительно повысился – до 33,4 пг/мл ($p > 0,05$), однако в дальнейшем оставался стабильным на протяжении последующего наблюдения (табл. 1). У пациентов группы сравнения уровень данного цитокина в СЖ больного глаза в ходе наблюдения постепенно повышался и через 12 мес. после курса фармакотерапии достиг исходного – перед лечением – уровня (табл. 2).

На 3-и сутки после представленного хирургического лечения уровень IL-6 в СЖ больного глаза в основной группе пациентов снизился в 1,3 раза по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$) (табл. 1), при этом у пациентов группы сравнения этот показатель уменьшился в 1,1 раза ($p > 0,05$) (табл. 2). Через 1 мес. после проведённого лечения в основной группе уровень данного цитокина уменьшился в 1,7 раза от первоначального ($p < 0,05$) (табл. 1), в группе сравнения – лишь в 1,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 3 мес. после интрастромального введения суспензии аутологичных мононуклеаров крови содержание IL-6 в СЖ больного глаза у пациентов основной группы снизилось в 2,1 раза ($p < 0,05$) от первоначального уровня, и в дальнейшем отмечалась его стабилизация на протяжении всего срока наблюдения (табл. 1). У пациентов же группы сравнения через 3 мес. после курса фармакотерапии уровень данного цитокина начал постепенно увеличиваться и через 12 мес. достиг исходного – перед лечением – уровня (табл. 2).

Уровень TNF- α в СЖ больного глаза у пациентов основной группы на 3-и сутки после введения суспензии аутологичных мононуклеаров крови в строму роговой оболочки уменьшился в 1,4 раза ($p < 0,05$) от исходного значения (табл. 1), в то время как в группе сравнения на фоне проводимого консервативного лечения – только в 1,1 раза ($p > 0,05$) (табл. 2). На 10-е сутки от начала лечения уровень TNF- α у пациентов основной

группы снизился в 1,6 раза от первоначального значения ($p < 0,05$) (табл. 1), в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). В ходе дальнейшего наблюдения уровень TNF- α СЖ в основной группе продолжил снижение и к 6-му месяцу наблюдения достиг минимального значения (табл. 1). В группе сравнения, напротив, отмечено постепенное повышение содержания данного цитокина (табл. 2).

Содержание IL-4 в СЖ у пациентов основной группы с ЭЭД роговицы на 3-и сутки после описанного хирургического лечения увеличилось в 2,3 раза ($p < 0,05$) от исходного значения (табл. 1), в то время как у пациентов группы сравнения, получавших консервативное лечение, – лишь в 1,1 раза ($p > 0,05$) (табл. 2). На 10-е сутки после интрастромального введения суспензии аутологичных мононуклеаров у пациентов основной группы уровень исследуемого цитокина превышал первоначальное значение в 1,5 раза ($p < 0,05$) (табл. 1), у пациентов же группы сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 1 мес. после лечения у пациентов основной группы содержание IL-4 в СЖ больного глаза превышало первоначальный уровень в 1,4 раза ($p < 0,05$), при этом данный показатель оставался относительно стабильным на протяжении всего срока наблюдения (12 мес.) (табл. 1). У пациентов группы сравнения через 1 мес. после курса фармакотерапии содержание IL-4 в СЖ больного глаза статистически значимо не отличалось от такового до начала лечения, а в дальнейшем, в течение 12 мес., наблюдалось его постепенное снижение (табл. 2).

Уровень IL-10 в СЖ больного глаза у пациентов основной группы на 3-и сутки после введения суспензии аутологичных мононуклеаров в строму роговой оболочки увеличился в 1,7 раза от исходного уровня ($p < 0,05$) (табл. 1). У пациентов группы сравнения при этом статистически значимого изменения данного цитокина не отмечено (табл. 2). На 10-е сутки после оперативного лечения с применением клеточных технологий у пациентов основной группы уровень IL-10 в СЖ увеличился в 1,8 раза от исходного ($p < 0,05$) (табл. 1), в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 1 мес. после хирургического лечения у пациентов основной группы уровень данного цитокина в СЖ больного глаза превышал первоначальное значение в 1,7 раза ($p < 0,05$), а через 3 мес. – в 1,9 раза ($p < 0,05$). В ходе дальнейшего, до 12 месяцев, наблюдения после незначительного, не являющегося статистически значимым ($p > 0,05$) по сравнению с показателем через 6 мес., снижения, выявлена стабилизация уровня IL-10 в СЖ больного глаза (табл. 1). В группе сравнения через 10 дней от начала фармакотерапии отмечено статистически значимое (в 1,2 раза; $p < 0,05$) повышение уровня указанного цитокина в СЖ больного глаза, и к окончанию наблюдения (12 мес.) его содержание в СЖ соответствовало таковому до лечения (табл. 2).

Уровень TGF- β 2 в СЖ больного глаза на 3-и сутки после проведённого лечения у пациентов обеих групп увеличился лишь в 1,1 раза от первоначального значения (табл. 1, 2), что не является статистически значимым ($p > 0,05$). Указанная тенденция сохранялась в обеих

группах (табл. 1, 2) и на 10-е сутки после лечения. Через 1 мес. у пациентов основной группы уровень TGF- β 2 в СЖ больного глаза увеличился в 1,4 раза ($p < 0,05$) от исходного значения (табл. 1), в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). В ходе дальнейшего наблюдения выявлено постепенное снижение уровня TGF- β 2 в обеих группах, достигшего к 12 мес. после лечения первоначального уровня (табл. 1, 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов позволил обнаружить у всех пациентов с ЭЭД роговицы до начала лечения статистически значимое увеличение в СЖ больного глаза провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , что свидетельствует о существенной роли воспаления в патогенезе данного заболевания. Так, IL-1 β является цитокином, который индуцирует воспаление на местном уровне и повышает хемотаксис клеток-эффекторов к патологическому очагу [14]. IL-6 также способствует активации воспаления на фоне снижения функции контроля за избыточной воспалительной реакцией [15], а TNF- α является одним из наиболее значимых провоспалительных цитокинов и участвует в патогенезе многих иммуновоспалительных заболеваний. TNF- α повышает функциональную активность лейкоцитов и макрофагов, усиливая фагоцитоз и синтез цитокинов [15].

Вместе с этим у всех пациентов с ЭЭД роговицы в СЖ больного глаза до начала лечения выявлено незначительное, не являющееся статистически значимым ($p > 0,05$), повышение содержания и таких цитокинов, как IL-10 и -4, TGF- β 2. Указанные биологически активные вещества являются полифункциональными цитокинами, регулирующими большое количество биологических процессов, таких как миграция, пролиферация и апоптоз различных видов клеток, а также оказывающими противовоспалительное и иммуносупрессивное действия [14, 15, 16]. Выявленные в ходе исследования особенности локального цитокинового профиля при ЭЭД роговицы свидетельствуют о наличии дисбаланса в системе про- и противовоспалительных цитокинов, выраженность которого в определённой степени может обуславливать тяжесть течения дистрофического поражения роговой оболочки.

Согласно результатам II этапа исследования, введение в строму роговой оболочки при ЭЭД суспензии аутологичных мононуклеаров крови как источника цитокинов способствует постепенному, в течение трёх месяцев, восстановлению уровня изученных цитокинов в СЖ больного глаза, уменьшая существующий дисбаланс. Это в свою очередь обеспечивает купирование воспаления со стабилизацией течения патологического процесса в дистрофически изменённой роговице.

Курс консервативного лечения, проведённый пациентам группы сравнения, согласно полученным данным, обеспечивает лишь кратковременное – в течение 1 мес. – уменьшение дисбаланса в локальной цитокиновой системе при ЭЭД роговицы с последующим регрессом.

ВЫВОДЫ

Течение ЭЭД роговицы характеризуется дисбалансом в системе про- и противовоспалительных цитокинов в слёзной жидкости больного глаза, наличие которого в определённой степени обуславливает тяжесть течения заболевания.

Применение нового персонафицированного хирургического метода лечения ЭЭД роговицы с использованием клеточных технологий позволяет уменьшить выраженность дисбаланса локальной цитокиновой системы по сравнению с курсом фармакотерапии, обеспечивая стабилизацию патологического процесса.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каспарова Е.А., Суббот А.М. Пролиферативный потенциал заднего эпителия роговицы человека. *Вестник офтальмологии*. 2013; 129(3): 82-88.
2. Forest F, Thuret G, Gain P. Optimization of immunostaining on flat-mounted human corneas. *Molecular Vision*. 2015; 21: 1345-1356.
3. Heeren T, Holz FG, Löffler KU. Bullous keratopathy. *Ophthalmology*. 2013; 110(11): 1069-1072. doi: 10.1007/s00347-013-2893-z
4. Каспаров А.А., Каспарова Е.А., Труфанов С.В. Послеоперационная буллезная кератопатия: трансплантационные и не трансплантационные методы лечения. *Тезисы докладов Девятого съезда офтальмологов России*. 2010: 307.
5. Мороз З.И. Современные направления хирургического лечения патологии роговицы. *Тезисы докладов Девятого съезда офтальмологов России*. 2010: 298-299.
6. Tomida D, Yagi-Yaguchi Y, Higa K, Satake Y, Shimazaki J, Yamaguchi T. Correlations between tear fluid and aqueous humor cytokine levels in bullous keratopathy. *Ocul Surf*. 2020; 18(4): 801-807. doi: 10.1016/j.jtos.2020.06.010
7. Suzuki N, Yamaguchi T, Shibata S, Nagai T, Noma H, Tsubota K, Shimazaki J. Cytokine levels in the aqueous humor are associated with corneal thickness in eyes with bullous keratopathy. *Am J Ophthalmol*. 2019; 198: 174-180. doi: 10.1016/j.ajo.2018.10.008
8. Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Nakayama N, Yagi-Yaguchi Y, Dogru M, et al. Elevated cytokine levels in the aqueous humor of eyes with bullous keratopathy and low endothelial cell density. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57(14): 5954-5962. doi: 10.1167/iovs.16-20187
9. Черных В.В., Шваюк А.П., Горбенко О.М., Сафронов И.Д., Чехова Т.А., Трунов А.Н., Трунова Л.А. Особенности иммунобиохимических показателей слёзной жидкости при начальной и развитой стадиях первичной открытоугольной глаукомы. *Проблемы клинической медицины*. 2005; 2(2): 83-86.
10. Бикбов М.М., Шевчук Н.Е., Мальханов В.Б. *Цитокины в офтальмологии*. Уфа: Уфимский полиграфкомбинат; 2008.
11. Jun AS, Cope L, Speck C, Feng X, Lee S, Meng H, Hamad A, Chakravarti S. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One*. 2011; 6(1): e16437. doi: 10.1371/journal.pone.0016437

12. Kumar A, Sharma SP, Agarwal A, Gupta V, Katoch D, Sehgal S, Singh N. Tear IL-6 and IL-10 levels in HLA-B27-associated uveitis and its clinical implications. *Ocul Immunol Inflamm.* 2021; 29(2): 237-243. doi: 10.1080/09273948.2019.1704022

13. Маркелова Е.В., Кириенко А.В., Чикаловец И.В., Догдова Л.П. Характеристика системы цитокинов и её роль в патогенезе первичных глауком. *Фундаментальные исследования.* 2014; 2: 110-116.

14. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. *Цитокины.* СПб.: ООО «Издательство Фолиант»; 2008.

15. Симбирцев А.С. *Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека.* СПб.: Фолиант; 2018.

16. Ip WKE, Hoshi N, Shouval DS, Snapper S, Medzhitov R. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science.* 2017; 356(6337): 513-519. doi: 10.1126/science.aal3535

REFERENCES

1. Kasparova EA, Subbot AM. Proliferative potential of human corneal endothelium. *Vestnik oftalmologii.* 2013; 129(3): 82-88. (In Russ.).

2. Forest F, Thuret G, Gain P. Optimization of immunostaining on flat-mounted human corneas. *Molecular Vision.* 2015; 21: 1345-1356.

3. Heeren T, Holz FG, Löffler KU. Bullous keratopathy. *Ophthalmology.* 2013; 110(11): 1069-1072. doi: 10.1007/s00347-013-2893-z

4. Kasparov AA, Kasparova EA, Trufanov SV. Postoperative bullous keratopathy: transplantation and non-transplantation methods of treatment. *Tezisy докладov Devyatogo sjezda oftalmologov Rossii.* 2010: 307. (In Russ.).

5. Moroz ZI. Modern directions of surgical treatment of corneal pathology. *Tezisy докладov Devyatogo sjezda oftalmologov Rossii.* 2010: 298-299. (In Russ.).

6. Tomida D, Yagi-Yaguchi Y, Higa K, Satake Y, Shimazaki J, Yamaguchi T. Correlations between tear fluid and aqueous humor

cytokine levels in bullous keratopathy. *Ocul Surf.* 2020; 18(4): 801-807. doi: 10.1016/j.jtos.2020.06.010

7. Suzuki N, Yamaguchi T, Shibata S, Nagai T, Noma H, Tsubota K, Shimazaki J. Cytokine levels in the aqueous humor are associated with corneal thickness in eyes with bullous keratopathy. *Am J Ophthalmol.* 2019; 198: 174-180. doi: 10.1016/j.ajo.2018.10.008

8. Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Nakayama N, Yagi-Yaguchi Y, Dogru M, et al. Elevated cytokine levels in the aqueous humor of eyes with bullous keratopathy and low endothelial cell density. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57(14): 5954-5962. doi: 10.1167/iovs.16-20187

9. Chernykh VV, Shvayuk AP, Gorbenko OM, Safronov ID, Chekhova TA, Trunov AN, Trunova LA. Features of immunobiochemical parameters of lacrimal fluid in the initial and advanced stages of primary open-angle glaucoma. *Problemy klinicheskoy meditsiny.* 2005; 2(2): 83-86. (In Russ.).

10. Bikbov MM, Shevchuk NE, Malkhanov VB. *Cytokines in ophthalmology.* Ufa: Ufimskij poligrafkombinat; 2008. (In Russ.).

11. Jun AS, Cope L, Speck C, Feng X, Lee S, Meng H, Hamad A, Chakravarti S. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One.* 2011; 6(1): e16437. doi: 10.1371/journal.pone.0016437

12. Kumar A, Sharma SP, Agarwal A, Gupta V, Katoch D, Sehgal S, Singh N. Tear IL-6 and IL-10 levels in HLA-B27-associated uveitis and its clinical implications. *Ocul Immunol Inflamm.* 2021; 29(2): 237-243. doi: 10.1080/09273948.2019.1704022

13. Markelova EV, Kirienko AV, Chikalovets IV, Dogadova LP. Characteristics of the cytokine system and its role in the pathogenesis of primary glaucoma. *Fundamental Research.* 2014. 2: 110-116. (In Russ.).

14. Ketlinskiy SA, Simbirtsev AS. *Cytokines.* Saint-Petersburg: ООО «Издательство Фолиант»; 2008. (In Russ.).

15. Simbirtsev AS. *Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases.* Saint-Petersburg: Фолиант; 2018. (In Russ.).

16. Ip WKE, Hoshi N, Shouval DS, Snapper S, Medzhitov R. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science.* 2017; 356(6337): 513-519. doi: 10.1126/science.aal3535

Сведения об авторах

Дениско Марьяна Сергеевна – очный аспирант, ассистент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: m.s.sharova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2696-7183>

Жигальская Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tatyana@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3110-4112>

Кривошеина Ольга Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: oikr@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7509-5858>

Information about the authors

Maryana S. Denisko – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, e-mail: m.s.sharova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2696-7183>

Tatyana A. Zhigalskaya – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, e-mail: tatyana@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3110-4112>

Olga I. Krivosheina – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, e-mail: oikr@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7509-5858>