

УДК: 617.764.1-008.8-097-02:617.713-002.44-089

Турчин Н. В.

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ЯЗВОЙ РОГОВИЦЫ ПРИ УСЛОВИИ РАЗНЫХ МЕТОДОВ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

*ДВНЗ «Тернопольский Государственный Медицинский Университет им. И.Я.Горбачевського», Украина*

**Ключевые слова:** пластика роговицы по Кунту, кератоксенопластика, цитокины

Заболевания роговицы составляют группу нозологий, которые являются причиной снижения остроты зрения, а в некоторых случаях нарушенной анатомической целостности глаза. В структуре офтальмологических патологий язва роговицы вызывает особенный интерес, поскольку в развитых странах мира она является причиной снижения остроты зрения и слепоты в 6,3%-23,2% больных [1, 2]. Согласно литературным данным, наиболее распространены травматические язвы роговицы (44-89%), а самыми частыми причинами перфораций роговицы являются нейротрофические язвы (43%), бактериальные кератиты (6,7-45%), рецидивирующий герпес (10-56,5%) и иммунные язвы (до 33 %) [3-5].

Несмотря на большое количество существующих на данный момент схем консервативного лечения, проблемы патологии глаз сохраняют свою актуальность. Традиционный медикаментозный подход к лечению язвы роговицы включает использование антибактериальных, противовоспалительных, десенсибилизирующих средств, а также препаратов, которые улучшают трофику и регенерацию [6-8].

Хирургическую тактику чаще всего используют при развитии осложнений, в частности, перфорации роговицы. Исследователи из Беларуси предложили использовать амниотическую мембрану для кератопластики, утверждая, что такой лечебный метод отличается высокой эффективностью и низкой частотой гнойных осложнений при ее использовании у больных с чистыми и гнойными язвами роговицы [6]. Русские ученые в своих исследованиях предположили, что использованная ими трансплантация фетальных клеток роговицы человека способствует быстрому купированию кореального синдрома, уменьшению отека роговицы, ускорению эпителизации у больных с эрозиями и язвами роговицы [9]. Анализ научной литературы показал много нерешенных вопросов относительно эффективности лечения заболеваний роговицы, а также поиск и совершенствование методов хирургической коррекции язвы роговицы и ее осложнений.

**Цель** – сравнить уровень про и противовоспалительных цитокинов, а именно фактора некроза опухолей  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) и интерлейкина 4 (IL-4) (в слезной жидкости больных с язвой роговицы при различных методах хирургической коррекции).

### **Материал и методы**

Исследование проведено на базе офтальмологического отделения Тернопольской университетской больницы. В течение 2013-2014гг. было отобрано 26 пациентов с диагностированной язвой роговицы, в анамнезе которых отсутствовали хронические воспалительные и аллергические заболевания глаз (рис.1). Критерием отбора также был негативный результат микробиологического исследования флоры конъюнктивы глаза.

Больные были разделены на группы:

- первая опытная группа пациенты с язвой роговицы через 3-ое суток после: 3-а пластики роговицы по Кунту (16 больных), 3-б – ксенокератопластики (10 больных);
- вторая опытная группа пациенты с язвой роговицы через 14 суток после: 14-а пластики роговицы по Кунту (16 больных), 14-б – ксенокератопластики (10 больных);
- третья опытная группа – пациенты с язвой роговицы через 21 сутки после: 21-а пластики роговицы по Кунту (16 больных), 21-б ксенокератопластики (10 больных).

В общем, в исследование включено 46 пациентов: 10 больных контрольной группы и 10 – группы сравнения, а также 16 пациентов с язвой роговицы, которым проводилась пластика роговицы по Кунту и 10 больных после ксенокератопластики.

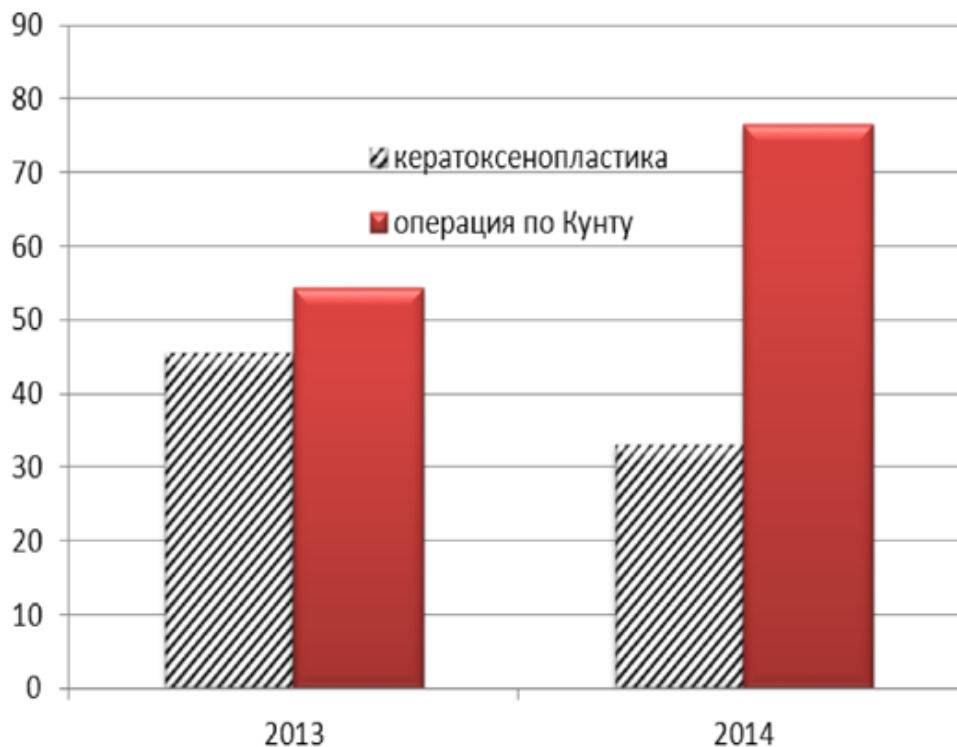


Рис. 1. Распределение (%) больных с язвой роговицы в зависимости от хирургического вмешательства на протяжении 2013-2014 гг.

Хирургическое лечение проводили с использованием конъюнктивальной пластики роговицы, разработанной Кунтом [10], или ксенокератоимплантата. Производство криолиофилизированного ксенокератоимплантата осуществлено по технологии, разработанной совместно Тернопольским государственным медицинским университетом имени И.Я.Горбачевского и Одесским институтом глазных болезней и тканевой терапии имени акад. В.П.Филатова АМН Украины (Пат. 52278 U, 2010). В каждом случае было получено информированное согласие пациента на предложенную операцию. Все пациенты после операции получали общепринятое медикаментозное лечение (антибактериальная, противовоспалительная терапия местно и системно, стимуляторы регенерации).

Забор слезной жидкости проводили атравматически с нижнего слезного мениска. Уровни TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-4 в слезной жидкости определяли иммуноферментным методом на анализаторе STAT Fax с помощью стандартных методик [11].

Статистическую обработку цифровых данных производили с помощью программного обеспечения "Excel" (Microsoft, США) и "STATISTICA" 6.0. ("Statsoft", США) с использованием непараметрических методов оценки полученных данных. Для всех показателей рассчитывали значение средней арифметической выборки (M), ее дисперсии и ошибки средней (m). Достоверность разницы значений между независимыми количественными величинами определяли методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

#### Результаты и их обсуждение

Полученные результаты исследования указывают, что хирургическая коррекция язвы роговицы методом пластики по Кунту предопределяла достоверное снижение в слезной жидкости уровня TNF- $\alpha$  через 14 суток на 26,6% относительно группы сравнения, однако его концентрация была на 35,7% выше данных контроля. Нужно отметить, что уровень исследуемого цитокина до завершения наблюдения (21 сутки) был достоверно выше (на 62,6%) контрольных значений и на 12,0 % ниже группы сравнения (табл. 1). Такая же динамика отмечена относительно изменений IL-1 $\beta$  у пациентов с язвой роговицы и хирургической коррекцией по Кунту, в частности, концентрация данного цитокина достоверно снижалась через 14 суток на 8,6% относительно группы сравнения, однако оставалась на 45,0 % значительно выше показателей контроля ( $p < 0,05$ ). Нужно отметить, что уровень IL-1 $\beta$  до завершения наблюдения (21 сутки) был достоверно выше (на 72,3%) контрольных значений и на 8,6 % ниже группы сравнения (табл. 1). Анализ динамики уровня

TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  указывает на положительный эффект хирургической коррекции язвы роговицы по Кунту на 14 сутки со следующей активацией провоспалительной активности на 21 сутки.

Исследование противовоспалительного IL-4 свидетельствовало о его повышении через 3-е суток на 18,1 %, через 14 суток на 22,2 % и через 21 сутки на 8,2 % относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Следует указать также на уменьшение его уровня на 10,2 % через 3-е суток с постепенной нормализацией концентрации исследуемого интерлейкина через 14 дней после хирургической коррекции и следующим снижением на 17,8 % через 21 сутки против данных контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

**Изменения уровня цитокинов (пкг/мл) в слезной жидкости больных язвой роговицы методом пластики по Кунту ( $M \pm m$ )**

Показатель	контроль	до лечения	3 сутки	14 сутки	21 сутки
ФНП- $\alpha$	74,27 $\pm$ 2,37	137,24 $\pm$ 1,65*	147,68 $\pm$ 2,96* p1<0,05	100,78 $\pm$ 1,07* p1<0,05; p2<0,05	120,78 $\pm$ 2,70* p1<0,05; p3<0,05
IL-1 $\beta$	89,16 $\pm$ 1,67	141,51 $\pm$ 1,65*	163,13 $\pm$ 1,28* p1<0,05	129,28 $\pm$ 2,50* p1<0,05; p2<0,05	153,65 $\pm$ 3,38* p1<0,05; p3<0,05
IL-4	31,49 $\pm$ 0,99	23,93 $\pm$ 1,00*	28,26 $\pm$ 0,60 p1<0,05	29,25 $\pm$ 0,75 p1<0,05	25,89 $\pm$ 0,72*

*Примечание (здесь и в следующей таблице): \* - достоверность отличий между контрольной и опытными группами ( $p < 0,05$ ); p1 - достоверность отличий между группой до лечения и опытными группами; p2 - достоверность отличий между группами через 3-е и 14 суток; p3 - достоверность отличий между группами через 14 и 21 сутки*

Проведенный анализ полученных результатов уровня цитокинов в слезной жидкости больных язвой роговицы методом ксенокератоластики показал достоверный рост уровня TNF- $\alpha$  через 3-е суток на 24,1 % относительно группы сравнения со следующим его снижением через 14 суток на 23,7 % против данных 3-б группы и через 21 сутки на 37,8 % относительно группы 14-б ( $p < 0,05$ ). Нужно отметить, что концентрация исследуемого цитокина до конца срока наблюдения практически возвращалась к контрольным значениям (табл. 2). Уровень IL-1 $\beta$  вырос через 3-е суток на 24,1 % со следующим его снижением к 21 сутки на 37,3% относительно группы сравнения. Нужно отметить, что концентрация IL-1 $\beta$  при ксенокератоластики через 21 день наблюдения практически не отличалась от показателей контроля (табл. 2). Исследование противовоспалительного IL-4 показало на его повышение через 3-е суток на 23,6 %, через 14 суток на 46,1 % и через 21 сутки на 33,7 % относительно группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Следует указать также на высокий уровень IL-4 в 14-б группе, который возвращался к нормальным значениям через 21 сутки после хирургической коррекции в результате применения ксенокератоластики против данных контрольной группы (табл. 2).

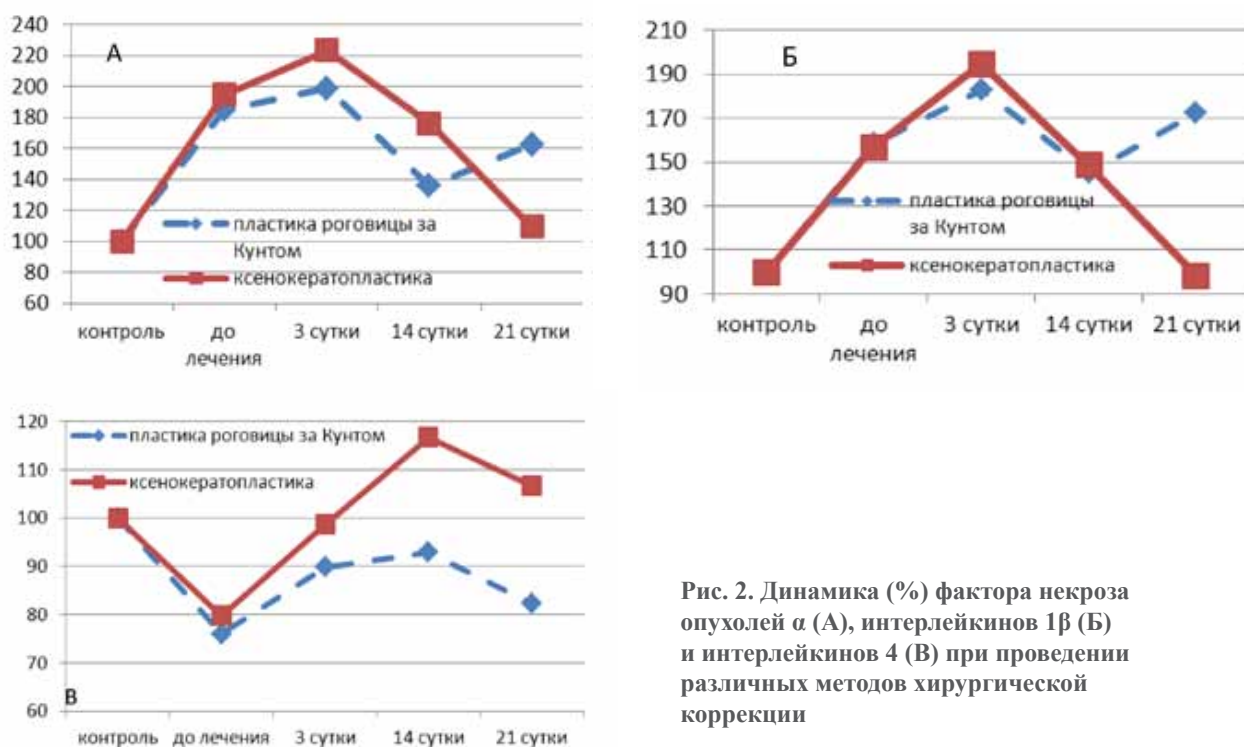
Сравнивая полученные данные в пределах одной группы при проведении различных методов хирургической коррекции можно утверждать об однонаправленных изменениях провоспалительных цитокинов через 3-е суток, рост которых обусловлен незначительными антигенными свойствами конъюнктивы и криолиофилизированной роговицы свиньи (рис. 2А, 2Б). Отметим, в предыдущих исследованиях было установлено, что наименьшие гистоморфологические изменения в тканях донорской роговицы происходят при глубоком замораживании криопротектором, в том числе и с дальнейшей лиофилизацией роговицы [12].

Таблица 2

## Изменения уровня цитокинов (пкг/мл) в слезной жидкости больных язвой роговицы при проведении ксенокератопластики (M±m)

Показатель	контроль	до лечения	3 сутки	14 сутки	21 сутки
TNF- $\alpha$	70,57±1,54	137,47±1,28*	157,59±2,33* p1<0,05	124,23±1,74* p1<0,05; p2<0,05	77,29±1,85* p1<0,05; p3<0,05
IL-1 $\beta$	88,26±1,27	138,39±1,41*	171,71±2,63* p1<0,05	130,94±1,28* p1<0,05; p2<0,05	86,75±3,30 p1<0,05; p3<0,05
IL-4	32,08±1,16	25,61±1,10*	31,65±0,65 p1<0,05	37,43±1,25* p1<0,05; p2<0,05	34,24±0,83 p1<0,05

Результаты исследования показали на то, что максимально позитивный эффект пластики роговицы по Кунту был на 14-е сутки, однако данный период также выступал в качестве точки повторного роста провоспалительных цитокинов и снижения IL-4 до 21 дня. В противовес применения конъюнктивы, использования ксенокератоимплантата сопровождалось позитивной динамикой про- и противовоспалительных цитокинов, которые практически возвращались к контрольным значениям (рис. 2А, 2Б, 2В). Полученные результаты указывают на выраженный противовоспалительный эффект ксенокератоимплантата, что мы связываем с его свойствами, в первую очередь, сорбционно-антитоксическими, пластическими, метаболическими и окислительно-восстановительными. Нужно также отметить, что у больных с язвами роговицы при применении ксенокератопластики послеоперационный период протекал спокойно, трансплантат постепенно рассосался, но было достигнуто полное заживление язвы и закрытие фистулы роговицы. Применения конъюнктивальной пластики роговицы, разработанной Кунтом, предопределяло полное заживление язвы лишь в 20 % пациентов, остальные больные нуждались в повторной хирургической коррекции.

Рис. 2. Динамика (%) фактора некроза опухолей  $\alpha$  (А), интерлейкинов 1 $\beta$  (Б) и интерлейкинов 4 (В) при проведении различных методов хирургической коррекции

**Заклучение**

В случае применения криолиофилизированной роговицы свињи больным с язвами роговицы концентрация про и противовоспалительных цитокинов в слезной жидкости через 21 сутки наблюдения возвращается практически к нормальным значениям, тогда как использование конъюнктивальной пластики роговицы, разработанной Кунтом, сопровождается повышением уровня TNF- $\alpha$  (на 62,6 %) и IL-1 $\beta$  (на 72,3 %), а также снижением IL-4 (на 17,6 %) против контроля.

Учитывая полное заживление язвы и постепенное рассасывание трансплантата, позитивную динамику цитокинового профиля, использования криолиофилизированной роговицы свињи являются значительно эффективнее относительно пластики по Кунту, потому ее можно рекомендовать для лечебной кератопластики больным с язвами роговицы.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Bourcier T., Thomas F., Borderie V. et al. Bacterial keratitis : predisposing factors: clinical and microbiological review of 300 cases // Br. J. Ophthalmol., 2003, v.87, №7, p.834-838.
2. Nurozler A.B. Results of therapeutic penetrating keratoplasty // Jpn. J. Ophthalmol., 2004, v.48, №4, p.368-371.
3. Keay L., Edwards K., Naduvilath T., et al. Microbial keratitis predisposing factors and morbidity // Ophthalmology, 2006, v.113, №1, p.109-116.
4. Тарасова Л.Н., Шаимова В.А., Симбирцев А.С. Роль провоспалительных цитокинов в развитии бактериальных кератитов // Вестн. офтальмолог., 2005, №6, с.16-18.
5. Шаимова В.А. Клиникоэтиологические особенности различных типов течения гнойной язвы роговицы // Вестн. офтальмолог., 2002, №1, с.39-41.
6. Ситник Г.В. Современные подходы к лечению язв роговицы // Мед. журн., 2007, №4, с.100-104.
7. Appelbaum P. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives // Hunter Int. J. Antimicrob agents., 2000, v.16, p.515.
8. Чебан К., Бенделик Е., Гудумак В. Моксифлин в лечении язвы роговицы // Офтальмолог. Журн. Казахстана, 2010, №4, с.32-38.
9. Ченцова Е.В., Гундорова Р.А., Петриашвили Г.Г. и др. Клинический опыт аллотрансплантации фетальных клеток роговицы в офтальмологи // Глаз, 2000, №3, с.13.
10. Sudalin A., Vatmanov Yu. Keratoplasty and conjunctival plastics in stromal keratitis // Электронный ресурс, режим доступа: <http://doctor.wponline.com/article/11252>
11. Сенников С.В., Силков А.Н. Методы определения цитокинов // Цитокины и воспаление, 2005, т.4, №1, с.22-27.
12. Пасечникова Н.В., Якименко С.А., Бігуняк В.В. и др. Клинико-экспериментальные результаты применения амниотической оболочки и криолиофилизированной роговицы свиные в качестве материала для кератопластики // Медицина сегодня и завтра, 2011, №12(5051), с.226-228.

Turçin N.V.

## CƏRRAHİ KORREKSIYANIN MÜXTƏLİF ÜSULLARI ŞƏRAİTİNDƏ BUYNUZ QIŞANIN XORASI OLAN XƏSTƏLƏRDƏ GÖZ YAŞI MAYESİNİN SİTOKİN PROFİLİNİN XÜSUSİYYƏTLƏRİ

“İ.Y. Qorbaçevski adına Ternopol Dövlət Tibb Universiteti” DATİ, Ukrayna

**Açar sözlər:** Kunt üzrə buynuz qişanın plastikasi, keratoksenoplastika, sitokinlər

**XÜLASƏ**

**Məqsəd** – cərrahi korreksiyanın müxtəlif üsulları şəraitində buynuz qişanın xorası olan xəstələrdə göz yaşı mayesində pro- və iltihab əleyhinə sitokinlərin, xüsusən də  $\alpha$  şişlərin nekrozu amilinin, 1 $\beta$  və 4 interleykinlərinin səviyyəsini müqayisə etmək.

**Material və metodlar**

Tədqiqatlar Ternopol universiteti xəstəxanasının oftalmoloji şöbəsi bazasında aparılıb. 2013-2014-cü illər ərzində anamnezlərində gözün xroniki iltihabi və allergik xəstəliyi mövcud olmayan buynuz qişanın xorası ilə 26 pasiyent seçilmişdir.

Cərrahi müalicə Kunt tərəfindən işlənilib hazırlanmış buynuz qişanın konyunktival plastikasının və ya ksenokeratoplastikanın istifadəsi ilə həyata keçirilmişdir [10].

$\alpha$ -şişlərin nekroz amili ( $\alpha$ -ŞNA), interleykin  $1\beta$  (IL  $1\beta$ ) və interleykin 4 (IL 4) göz yaşı mayesində miqdarı immunoferment metodun köməyi ilə təyin edilmişdir.

**Nəticə**

Buynuz qişanın xorası olan xəstələrə krioliofilizə olunmuş donuz buynuz qişasının tətbiqi hallarında göz yaşı mayesində pro- və iltihabəleyhinə sitokinlərin konsentrasiyası müşahidənin 21 günündən sonra, praktiki olaraq, norma səviyyəsinə qayıdır, halbuki, Kunt tərəfindən işlənilib hazırlanmış buynuz qişanın konyunktival plastikasının tətbiqi, kontrollu müqayisədə  $\alpha$ -ŞNA (62,6%) və IL  $1\beta$  (72,3%) səviyyəsinin yüksəlməsi, həmçinin IL 4 (17,6%) səviyyəsinin enməsi ilə müşayiət olunur.

**Yekun**

Xoranın tam sağalmasını və transplantatın tədricən sorulmasını, sitokin profilinin pozitiv dinamikasını nəzərə alaraq krioliofilizə olunmuş donuz buynuz qişasının tətbiqi, Kunt tərəfindən işlənilib hazırlanmış plastikaya nisbətən, daha effektivdir, buna görə də onu buynuz qişanın xorası olan xəstələrə müalicəvi keratoplastika kimi tövsiyə etmək olar.

Turchin N.V.

## FEATURES OF THE CYTOKINE PROFILE OF THE TEAR LIQUID IN THE PATIENTS WITH ULCER OF THE CORNEA IN THE CASE OF DIFFERENT METHODS OF SURGICAL CORRECTION

*SHEI "Ternopol State Medical University named after I.Ya.Gorbachevskiy", Ukraine*

**Key words:** *of the cornea developed by Kunt, keratoksenoplastics, cytokines*

**Aim** – to compare the level of pro and antiinflammatory cytokines, including the tumor necrosis factor $\alpha$ , IL $1\beta$  and IL4 in the tear liquid of patients with an ulcer of the cornea during different methods of surgical correction.

**Material and methods**

The investigations is performed on the basis of the ophthalmological department of the Ternopol University hospital. During 2013-2014 there were picked out 26 patients with diagnosed ulcer of the cornea in the anamnesis of which the chronic inflammatory and allergic ocular diseases were absent.

Surgical treatment was spent with the use of conjunctiva plastics of the cornea developed by Kunt, or corneal ksenoderm transplantation. There were measured the levels of the TNF  $\alpha$ , IL1  $\beta$  and IL4 in the tear liquid using immunoassay method.

**Results**

The obtained results testify that in case of corneal ksenoderm of the pig application to the patient with corneal ulcer the concentration of pro and antiinflammatory cytokines in the tear liquid in 21 day of supervision reverses practically to normal values, whereas using of conjunctiva plastics of the cornea by Kunt is accompanied by increasing of the TNF $\alpha$  (on 62,6 %) and IL $1\beta$  (on 72,3 %) levels, and also by decreasing of IL4 (on 17,6 %) compare to the control.

**Conclusion**

Considering the full healing of an ulcer and gradual resorption of the transplant, positive dynamics of the cytokine profile, of the corneal ksenoderm of the pig are much more effective concerning to plasticity beyond Kunt, therefore it is possible to recommend it for medical ksenoplastic transplantation to patients with cornea ulcers.

**Для корреспонденции:**

Турчин Н.В.

Адрес: 46001, г. Тернополь, Майдан Воли, 1

Тел.: (0352) 52-44-92, факс (0352) 52-41-83

e-mail: university@tdmu.edu.ua; klishch@i.ua

# КОРТЕКСИН

CORTEXIN®

Работу мозга —  
в здоровое русло



## Показания к применению

- нарушения мозгового кровообращения
- черепно-мозговая травма и ее последствия
- энцефалопатии различного генеза
- когнитивные нарушения (расстройства памяти и мышления)
- острые и хронические энцефалиты и энцефаломиелиты
- эпилепсия
- астенические состояния (надсегментарные вегетативные расстройства)
- снижение способности к обучению
- задержка психомоторного и речевого развития у детей
- различные формы детского церебрального паралича.

Отпускается по рецепту врача. Имеются противопоказания. Перед применением ознакомьтесь с инструкцией.

Регистрационное удостоверение DV № 12-0947 от 25.12.2012

Представительство ООО "Герофарм" в Азербайджанской Республике.  
Адрес: г. Баку, ул. Низами 1/3. Тел: +994 12 599 08 80



[www.geropharm.ru](http://www.geropharm.ru)

