



О. В. Заволока,
П. А. Бездітко,
Л. П. Абрамова,
В. О. Векшин

Харківський національний
медичний університет

© Колектив авторів

ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ СЛІЗНОЇ РІДИНИ У ХВОРИХ НА БАКТЕРІАЛЬНИЙ КЕРАТИТИТ II СТУПЕНЮ ТЯЖКОСТІ ТА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

Реферат. *Мета роботи* – виявити особливості цитокінового профілю слізної рідини у хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості та ЦД 1 типу в динаміці спостереження.

Матеріали та методи. Проаналізували цитокіновий профіль слізної рідини 6 хворих на ЦД 1 типу й бактеріальні кератити II ступеню тяжкості та 6 хворих на бактеріальні кератити II ступеню тяжкості без ЦД у 1 день, 10-14 дні та 24 день спостереження. Дані 14 здорових осіб відповідного віку було використано для порівняння. II ступінь тяжкості бактеріального кератиту визначали згідно запропонованої нами схеми при сумі балів 15-21. Усім хворим проводили лікування інстиляціями офлоксацину, антисептиків, антиоксидантів, репаративів, сльозозамінників, мідріатиків, системної протизапальної терапії. Визначали концентрацію інтерлейкінів (ІЛ)-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-10 у слізній рідині хворого та контрлатерального ока за допомогою кількісного колориметричного імуноферментного аналізу з використанням наборів ІФА.

Результати та їх обговорення. У хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості, як при ЦД, так і без ЦД, на протязі 10-14 днів спостереження відмітили посилення експресії прозапальних цитокінів ІЛ-1 β й ІЛ-6 у слізній рідині хворого ока та протизапального цитокіну ІЛ-10 – у слізній рідині контрлатерального ока ($p < 0,05$). У хворих на ЦД було виявлено більш тривалу експресію ІЛ-1 β , ІЛ-6 у слізній рідині хворого та контрлатерального ока, що спостерігалася і на 24 день дослідження ($p < 0,05$).

Висновки. При ЦД відмічаються особливості цитокінового профілю слізної рідини у хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості в динаміці спостереження, а саме більш тривала експресія прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 у хворому та контрлатеральному оці.

Ключові слова: цукровий діабет, бактеріальний кератит, ступінь тяжкості бактеріального кератиту, інтерлейкіни, цитокіни.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) є одним з основних факторів ризику бактеріальних кератитів, які мають тяжкий перебіг [1]. Це може бути пов'язано з характерною для ЦД патологією імунної системи за рахунок хронічного системного запалення низької інтенсивності, що приводить до експресії прозапальних цитокінів за відсутності імуностимулятора [2] та зміни відповіді організму на пошкодження [3]. Цитокіни – група медіаторів міжклітинної взаємодії білкової природи, що забезпечують місцеву захисну реакцію шляхом ініціації і регуляції запального процесу, а також пластичних і репаративних процесів [4]. Результати проведених досліджень свідчать про підвищення концентрації прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ) 1 β й ІЛ-6) у слізній рідині хворого ока при бакте-

ріальному кератиті та протизапальних (ІЛ-10) – у слізній рідині контрлатерального ока [5]. Проте у доступній літературі відсутня інформація щодо особливостей цитокінового профілю у хворих на бактеріальний кератит та ЦД.

Мета досліджень

Виявити особливості цитокінового профілю слізної рідини у хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості та ЦД 1 типу в динаміці спостереження.

Матеріали та методи досліджень

Особливості цитокінового профілю слізної рідини аналізували у 6 хворих на ЦД 1 типу й бактеріальні кератити II ступеню тяжкості (основна група) та 6 хворих на бактеріальні кератити II ступеню тяжкості без ЦД (група порів-

няння) в динаміці спостереження. Дані 14 здорових осіб відповідного віку було використано для порівняння. Дослідження виконувалось відповідно до Хельсинської декларації, отримано дозвіл комісії з питань етики та біоетики ХНМУ.

Діагноз бактеріального кератиту був встановлений на основі характерної клінічної картини та підтверджений бактеріологічно. Ступінь тяжкості визначали згідно запропонованої нами схеми для визначення тяжкості бактеріальних кератитів, яка включає 8 ознак (локалізацію кератиту, ступінь запальної реакції в передній камері ока, ступінь перикорнеальної ін'єкції, розміри та глибину виразкового дефекту рогівки, глибину інфільтрації та набряку рогівки, ступінь зниження середнього порогу чутливості рогівки при безконтактній альгезиметрії з температурою струменю повітря 20°C), кожен з яких залежно від тяжкості оцінюється в балах (0, 1, 2, 3) з наступним підрахунком суми балів. У дослідження включили хворих із II ступенем тяжкості бактеріальних кератитів при сумі балів 15-21.

Усім хворим на бактеріальний кератит, як основної, так і групи порівняння, проводили лікування інстиляціями антибіотику офлоксацину, антисептиків, антиоксидантів, репаративів, сльозозамінників (0,15-0,4% гіалуронової кислоти), мідріатиків, системної протизапальної терапії до зникнення клінічної симптоматики.

Вік хворих основної групи коливався від 19 до 46 років і в середньому складав — $(31,0 \pm 10,0)$ років, в групі порівняння — коливався від 18 до 44 років і в середньому складав — $(32,8 \pm 9,3)$ років, у здорових осіб — коливався від 18 до 42 років і в середньому складав — $(29,3 \pm 9,0)$ років та достовірно не відрізнявся між собою ($p > 0,05$).

Крім стандартних методи офтальмологічного дослідження включали бактеріологічне дослідження, флуоресцеїновий тест, ОКТ переднього відрізка ока на апараті TOPCON 3D OCT-2000, безконтактне дослідження чутливості рогівки (за допомогою розробленого нами приладу та методики [6]). Забір слізної рідини здійснювався до закапування будь-яких очних крапель, згідно описаної раніше методики [5]. Визначали рівень ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-10 у слізній рідині хворого та контрлатерального ока на 1, 10-14 дні та 24 день спостереження за допомогою кількісного колориметричного імуноферментного аналізу з використанням наборів ІФА фірми ANOGEN (Онтаріо, Канада) відповідно до інструкції використання.

Для оцінки числових показників використовували середнє арифметичне значення (M), стандартне відхилення (m), діапазон коливань, медіану. При порівняльному аналізі міжгрупових порядкових показників використовували

непараметричний метод для незалежних вибірок (ранговий критерій Манна-Уїтні). Усі результати оцінювалися при граничному рівні похибки не більше 5% ($p < 0,05$).

Результати досліджень та їх обговорення

Концентрація прозапальних цитокінів ІЛ-1 β й ІЛ-6 у слізній рідині хворого ока основної групи пацієнтів на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості та ЦД і хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості без ЦД групи порівняння у 1 день та 10-14 дні спостереження достовірно не відрізнялась між собою ($p > 0,05$) і була вищою за відповідні показники здорових осіб групи порівняння ($p < 0,05$), як це показано у табл. 1. На 24 день концентрація ІЛ-1 β й ІЛ-6 у слізній рідині хворого ока основної групи була вищою за відповідні у групі порівняння та у здорових осіб ($p < 0,05$), показники яких достовірно не відрізнялись між собою ($p > 0,05$). Зниження концентрації ІЛ-1 β та ІЛ-6 у слізній рідині хворого ока у порівнянні до 1 дня спостереження, як у основній групі, так і у групі порівняння, відбулося на 24 день ($p < 0,05$). Рівень ІЛ-10 у слізній рідині хворого ока у основній групі достовірно не відрізнявся від такого у групі порівняння та у здорових осіб групи порівняння в усі терміни спостереження ($p > 0,05$).

У 1 та 24 день дослідження у хворих основної групи концентрація ІЛ-1 β і ІЛ-6 у слізній рідині контрлатерального ока була вище такої у групі порівняння та у здорових осіб ($p < 0,05$), показники яких достовірно не відрізнялися між собою ($p > 0,05$), як це показано у табл. 2. На 10-14 дні рівень ІЛ-1 β і ІЛ-6 у слізній рідині контрлатерального ока основної групи та групи порівняння підвищувався по відношенню до показників у 1 день в межах групи ($p < 0,05$) та був вище, ніж у здорових осіб ($p < 0,05$). У 1 та 10-14 дні спостереження у хворих основної групи та групи порівняння рівень ІЛ-10 у слізній рідині контрлатерального ока перевищував такий у здорових осіб ($p < 0,05$), проте достовірно не відрізнявся між собою ($p > 0,05$). У порівнянні з показником у 1 день рівень ІЛ-10 у слізній рідині контрлатерального ока у хворих основної групи й групи порівняння в межах групи зменшувався на 24 день спостереження ($p < 0,05$) й достовірно не відрізнявся від показника здорових осіб ($p > 0,05$).

Тобто, у хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості, як при ЦД, так і без ЦД, на протязі 10-14 днів спостереження відмітили посилення експресії прозапальних цитокінів ІЛ-1 β й ІЛ-6 у слізній рідині хворого ока та протизапального цитокіну ІЛ-10 — у слізній рідині контрлатерального ока. Слід відзначити, що у хворих на ЦД була виявлена більш тривала експресія прозапальних цитокінів ІЛ-1 β й ІЛ-6 у



Таблиця 1

Концентрація цитокінів (пг/мл) у слізній рідині хворого на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості ока залежно від наявності цукрового діабету в динаміці спостереження

| Дні | Група | ІЛ-1β | | | ІЛ-6 | | | ІЛ-10 | | |
|-------|-----------------|-------------------------|----------|---------|---------------------------|-----------|---------|-----------|----------|---------|
| | | М±m | Діапазон | Медіана | М±m | Діапазон | Медіана | М±m | Діапазон | Медіана |
| | Здорові, n=14 | 13,1±7,3 | 0-30 | 14,5 | 160,8±54,0 | 0-256 | 169 | 20,1±26,4 | 0-99 | 12 |
| 1 | Основна, n=6 | 119,5±49,6 ¹ | 53-200 | 112,5 | 1606±265,5 ¹ | 1150-1967 | 1627 | 45,2±61,4 | 9-169 | 24,5 |
| | Порівняння, n=6 | 108,5±48,3 ¹ | 45-185 | 103,5 | 1481±325,8 ¹ | 940-1825 | 1521,5 | 42,8±57,9 | 7-158 | 19 |
| 10-14 | Основна, n=6 | 113,8±47,1 ¹ | 51-192 | 108,5 | 1512±295,1 ¹ | 998-1889 | 1553,5 | 39,0±52,6 | 7-145 | 21 |
| | Порівняння, n=6 | 79,3±26,8 ¹ | 32-112 | 87 | 1394,2±352,2 ¹ | 820-1767 | 1427,5 | 36,8±53,4 | 0-142 | 15,5 |
| 24 | Основна, n=6 | 74,0±33,1 ^{1*} | 30-132 | 72,5 | 863,2±407,4 ^{1*} | 176-1459 | 884,5 | 35,0±50,5 | 7-137 | 16,5 |
| | Порівняння, n=6 | 28,5±21,1 ⁰ | 6-59 | 26 | 266,7±130,1 ⁰ | 36-424 | 285 | 34,5±49,6 | 0-131 | 13 |

Примітки: * оцінка статистичної значимості відмінностей між основною групою та групою контролю у відповідний період спостереження $p < 0,05$; ⁰ оцінка статистичної значимості відмінностей між показником у перший день та в динаміці спостереження в межах групи $p < 0,05$; ¹ - оцінка статистичної значимості відмінностей між показником здорових осіб та іншими групами у різні терміни спостереження $p < 0,05$

Таблиця 2

Концентрація цитокінів (пг/мл) у слізній рідині контрлатерального ока у хворих на бактеріальний кератит II ступеню тяжкості залежно від наявності цукрового діабету в динаміці спостереження

| Дні | Група | ІЛ-1β | | | ІЛ-6 | | | ІЛ-10 | | |
|-------|-----------------|-------------------------|----------|---------|---------------------------|----------|---------|-------------------------|----------|---------|
| | | М±m | Діапазон | Медіана | М±m | Діапазон | Медіана | М±m | Діапазон | Медіана |
| | Здорові, n=14 | 13,1±7,3 | 0-30 | 14,5 | 160,8±54,0 | 0-256 | 169 | 20,1±26,4 | 0-99 | 12 |
| 1-й | Основна, n=6 | 44,0±19,8 ^{*1} | 14-75 | 45 | 381,2±202,0 ^{*1} | 74-711 | 378,5 | 121,2±65,6 ¹ | 36-235 | 116 |
| | Порівняння, n=6 | 21,2±17,5 | 0-51 | 18,5 | 171,7±101,6 | 0-285 | 191,5 | 98,0±61,2 ¹ | 28-211 | 92 |
| 10-14 | Основна, n=6 | 80,5±35,2 ^{0*} | 29-138 | 80,5 | 866,7±383,9 ^{0*} | 116-1234 | 962 | 104,5±57,4 ¹ | 20-197 | 105 |
| | Порівняння, n=6 | 62,5±26,8 ^{0*} | 22-103 | 65,5 | 826,7±384,7 ^{0*} | 77-1186 | 913 | 86,3±56,9 ¹ | 14-188 | 81,5 |
| 24 | Основна, n=6 | 49,3±21,2 ^{*1} | 16-83 | 49,5 | 382,8±192,6 ^{*1} | 79-687 | 400,5 | 45,5±44,6 ⁰ | 7-134 | 33,5 |
| | Порівняння, n=6 | 27,2±16,2 | 12-56 | 23 | 189,2±111,2 | 0-315 | 217,5 | 40,7±39,6 ⁰ | 0-117 | 32 |

Примітки: * оцінка статистичної значимості відмінностей між основною групою та групою порівняння у відповідний період спостереження $p < 0,05$; ⁰ оцінка статистичної значимості відмінностей між показником у перший день та в динаміці спостереження в межах групи $p < 0,05$; ¹ оцінка статистичної значимості відмінностей між показником здорових осіб та іншими групами у різні терміни спостереження $p < 0,05$.

слізній рідині хворого та контрлатерального ока, що спостерігалася і на 24 день дослідження.

Висновки

При ЦД відмічаються особливості цитокінового профілю слізної рідини у хворих на бак-

теріальний кератит II ступеню тяжкості в динаміці спостереження, а саме – більш тривала експресія прозапальних цитокінів ІЛ-1β, ІЛ-6 у хворому та контрлатеральному оці.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

- Chang YS, Tai MC, Ho CH, Chu CC, Wang JJ, Tseng SH, Jan RL. Risk of Corneal Ulcer in Patients with Diabetes Mellitus: A Retrospective Large-Scale Cohort Study. *Sci Rep.* 2020;10(1):7388. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-64489-0>
- Yao Y, Li R, Du J, Long L, Li X, Luo N. Interleukin-6 and Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Eye Res.* 2019;44(5):564-74. <http://doi:10.1080/02713683.2019.1570274>
- Bonyek-Silva I, Nunes S, Santos RL, Lima FR, Lago A, Silva J, Carvalho LP, Arruda SM, Serezani HC, Carvalho EM, Brodskyn CI, Tavares NM. Unbalanced production of LTB4/PGE2 driven by diabetes increases susceptibility to cutaneous leishmaniasis. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1275-86. <http://doi:10.1080/22221751.2020.1773744>
- Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord.* 2003 Sep;4(3):291-9. doi: 10.1023/a:1025160614313.
- Yamaguchi T, Calvacanti BM, Cruzat A, Qazi Y, Ishikawa S, Osuka A, Lederer J, Hamrah P. Correlation between human tear cytokine levels and cellular corneal changes in patients with bacterial keratitis by in vivo confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(11):7457-66. <http://doi:10.1167/iovs.14-15411>
- Заволока ОВ, Бездітко ПА, Луханін ОО. Ефективність нового пристрою для безконтактної діагностики чутливості рогівки при визначенні її нейротрофічного стану у хворих на цукровий діабет I типу та бактеріальний кератит. *Офтальмол. журн.* 2019;6:29-33. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh201962933>

REFERENCES

1. Chang YS, Tai MC, Ho CH, Chu CC, Wang JJ, Tseng SH, Jan RL. Risk of Corneal Ulcer in Patients with Diabetes Mellitus: A Retrospective Large-Scale Cohort Study. *Sci Rep.* 2020;10(1):7388. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-64489-0>
2. Yao Y, Li R, Du J, Long L, Li X, Luo N. Interleukin-6 and Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Eye Res.* 2019;44(5):564-74. <http://doi.org/10.1080/02713683.2019.1570274>
3. Bonyek-Silva I, Nunes S, Santos RL, Lima FR, Lago A, Silva J, Carvalho LP, Arruda SM, Serezani HC, Carvalho EM, Brodskyn CI, Tavares NM. Unbalanced production of LTB4/PGE2 driven by diabetes increases susceptibility to cutaneous leishmaniasis. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1275-86. <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1773744>
4. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord.* 2003 Sep;4(3):291-9. doi: 10.1023/a:1025160614313.
5. Yamaguchi T, Calvacanti BM, Cruzat A, Qazi Y, Ishikawa S, Osuka A, Lederer J, Hamrah P. Correlation between human tear cytokine levels and cellular corneal changes in patients with bacterial keratitis by in vivo confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(11):7457-66. <http://doi.org/10.1167/iovs.14-15411>
6. Zavaloka OV, Bezditko PA, Lukhanin OO. Efektyvnist' novoho prystroyu dlya bezkontaktnoy diagnostyky chutlyvosti rohivky pry vyznachenni yiyi neyrotrofichnoho stanu u khvorykh na tsukrovyy diabet I typu ta bakterial'nyy keratyt. *Oftal'mol. zhurn.* 2019;6:29-33 [In Ukr.]. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh201962933>

ОСОБЕННОСТИ
ЦИТОКИНОВОГО
ПРОФИЛЯ СЛЕЗНОЙ
ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ
С БАКТЕРИАЛЬНЫМ
КЕРАТИТОМ II СТЕПЕНИ
ТЯЖЕСТИ И САХАРНЫМ
ДИАБЕТОМ

*О. В. Заволока,
П. А. Бездетко,
Л. П. Абрамова,
В. А. Векшин*

Реферат. *Цель работы* — выявить особенности цитокинового профиля слезной жидкости у больных с бактериальным кератитом II степени тяжести и СД I типа в динамике наблюдения.

Материалы и методы. Проанализировали цитокиновый профиль слезной жидкости у 6 больных с СД I типа и бактериальным кератитом II степени тяжести и 6 больных с бактериальным кератитом II степени тяжести без СД в 1 день, 10-14 день и 24 день наблюдения. Данные 14 здоровых лиц соответствующего возраста были использованы для сравнения. II степень тяжести бактериального кератита определяли согласно предложенной нами схеме при сумме баллов 15-21. Всем больным проводили лечение инстилляциями офлоксацина, антисептиков, антиоксидантов, репаративных, слезозаменителей, мидриатиков, системной противовоспалительной терапии. Определяли концентрацию интерлейкинов (ИЛ) -1 β , ИЛ-6 и ИЛ-10 в слезной жидкости больного и контрлатерального глаза с помощью количественного колориметрического иммуноферментного анализа с использованием наборов ИФА.

Результаты и их обсуждение. У больных с бактериальным кератитом II степени тяжести, как при СД, так и без СД, в течение 10-14 дней наблюдения отметили усиление экспрессии провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 в слезной жидкости больного глаза и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в слезной жидкости контрлатерального глаза ($p < 0,05$). У больных с СД была выявлена более длительная экспрессия ИЛ-1 β и ИЛ-6 в слезной жидкости больного и контрлатерального глаза, которая наблюдалась и на 24 день исследования ($p < 0,05$).

Выводы. При СД отмечаются особенности цитокинового профиля слезной жидкости у больных с бактериальным кератитом II степени тяжести в динамике наблюдения, а именно более длительная экспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 в больном и контрлатеральном глазу.

Ключевые слова: сахарный диабет, бактериальный кератит, степень тяжести бактериального кератита, интерлейкины, цитокины.



PECULIARITIES OF
THE LACRIMAL FLUID
CYTOKINE PROFILE
IN PATIENTS WITH
BACTERIAL KERATITIS
OF THE II DEGREE
SEVERITY AND DIABETES
MELLITUS

*O. V. Zavoloka, P. A. Bezditko,
L. P. Abramova, V. O. Vekshyn*

Summary. *The aim* was to identify the features of the lacrimal fluid cytokine profile in patients with bacterial keratitis of the II degree of severity and type 1 DM in the dynamics of observation.

Materials and methods. The lacrimal fluid cytokine profile was analyzed in 6 patients with type 1 DM and bacterial keratitis of the II degree of severity and 6 nondiabetic patients with bacterial keratitis of the II degree of severity on the 1st day, 10-14th day and 24th day of observation. Data from 14 healthy individuals of the appropriate age were used for comparison. II degree of severity of bacterial keratitis was determined according to our proposed scheme at a sum of points 15-21. All patients were treated with instillations of ofloxacin, antiseptics, antioxidants, reagents, artificial tears, mydriatics, systemic anti-inflammatory therapy. The concentration of interleukins (IL)-1 β , IL-6 and IL-10 in the lacrimal fluid of the sick and the contralateral eye was determined by quantitative colorimetric enzyme-linked immunosorbent assay using ELISA kits.

Results and discussion. In patients with bacterial keratitis of the II degree of severity, both with DM and nondiabetic, within 10-14 days of observation increased the expression of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-6 in the lacrimal fluid of the sick eye and anti-inflammatory cytokine IL-10 - in lacrimal fluid of the contralateral eye ($p < 0.05$). In DM patients, a longer expression of IL-1 β and IL-6 was detected in the lacrimal fluid of the sick and the contralateral eye, which was observed on the 24th day of the study ($p < 0.05$).

Conclusions. There are features of the lacrimal fluid cytokine profile in DM patients with bacterial keratitis of the II severity in the dynamics of observation, namely the longer expression of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 in the sick and the contralateral eye.

Key words: diabetes mellitus, bacterial keratitis, severity of bacterial keratitis, interleukins, cytokines