

А.М. Быстров¹, Е.В. Давыдова^{1,2}, А.А. Кузнецов¹

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ EGF И TGF- β 1 В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ЭРОЗИЕЙ ТРАНСПЛАНТАТА РОГОВИЦЫ ПРИ СКВОЗНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКЕ ВЫСОКОГО РИСКА

¹ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»,

г. Челябинск, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. Персистирующая эрозия трансплантата роговицы является одним из частых осложнений сквозной кератопластики. В поддержании целостности роговичной поверхности участвует каскад физиологических механизмов. Иммунокомпрометированная интраокулярная среда у пациентов из группы «высокого риска» отторжения трансплантата роговицы характеризуется нарушением баланса провоспалительных и способствующих репарации факторов в раннем послеоперационном периоде. Показатели эпителизации имеют важное прогностическое значение в отношении ожидаемого «срока жизни» трансплантата. **Цель исследования:** выявление клиничко-иммунологических параллелей при различных формах персистирующего эпителиального дефекта аллотрансплантата роговицы на основе показателей оптической когерентной томографии и динамики концентраций эпидермального фактора роста и трансформирующего фактора роста- β 1 в слезной жидкости. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 38 пациентов. Среди больных было 25 мужчин (65,9%) и 13 женщин (34,1%) в возрасте от 35 до 60 лет, средний возраст составил 48,1 \pm 5,4 года. Пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от особенностей течения послеоперационной эпителизации трансплантата. Уровни эпидермального фактора роста и трансформирующего фактора роста- β 1 в слезной жидкости определяли путем мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Bio-Plex MAGPIX[®] System (Luminex, США) с использованием тест-системы Multiplex (Luminex, США) в динамике на 2, 14, 30 и 45 сутки послеоперационного периода. Оценка состояния трансплантата осуществлялась в ходе биомикроскопии и оптической когерентной томографии переднего отрезка. **Результаты исследования** выявили клиничко-иммунологические особенности, демонстрирующие зависимость успешности эпителизации роговичного дефекта от концентрации эпидермального фактора роста и нарушение процесса репарации в виде патологического рубцевания при избыточной продукции трансформирующего фактора роста- β 1. **Заключение.** Изучение уровней эпидермального фактора роста и трансформирующего фактора роста- β 1 в слезной жидкости пациентов «высокого риска» после проведения сквозной кератопластики может служить прогностическим ориентиром вероятного исхода успешной имплантации донорской роговицы.

Ключевые слова: кератопластика, оптическая когерентная томография, трансформирующий фактор роста-бета, эпидермальный фактор роста

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Быстров Алексей Михайлович

highvision@bk.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Быстров А.М., Давыдова Е.В., Кузнецов А.А. Взаимосвязь показателей EGF и TGF- β 1 в слезной жидкости пациентов с персистирующей эрозией трансплантата роговицы при

сквозной кератопластике высокого риска. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 3, с. 262–275, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-262-275

Введение

Функциональная недостаточность трансплантата после сквозной кератопластики (СК) является серьезной проблемой послеоперационной реабилитации пациентов. Ведущими факторами оптической дисфункции считаются развившаяся реакция отторжения, инфекционные осложнения, высокий индуцированный астигматизм [1]. Немаловажное значение имеет и нарушение поверхности роговичного трансплантата.

Персистирующая эрозия трансплантата, также известная как персистирующий эпителиальный дефект роговицы, является частым осложнением сквозной пересадки роговицы, составляя от 3 до 19,2% [2]. Общих критериев постановки подобного диагноза нет, и в исследованиях используется такое определение, как «отсутствие полного заживления эпителиального дефекта трансплантата в течение 6-14 дней».

Отечественные авторы в своих работах выделяют несколько вариантов персистирующих эрозий: первичная персистирующая эрозия трансплантата роговицы, которая сохраняется от 10 дней до одного месяца после операции; длительная первичная персистирующая эрозия трансплантата роговицы, наблюдаемая более одного месяца после кератопластики; персистирующая эрозия трансплантата роговицы – дефект эпителия, возникающий после полной эпителизации; рецидив персистирующей эрозии роговичного трансплантата [3]. Показатели эпителизации имеют важное прогностическое значение в отношении ожидаемого «срока жизни» трансплантата. Задержка репарации эпителия может иметь существенные последствия, в генезе которых выделяют патофизиологические и иммунологические механизмы [4].

В архитектонике роговицы существует ряд рецепторов факторов роста и рецепторов цитокинов, функционирование которых способствует восстановлению и поддержанию стабильного состояния эпителия [5]. В частности, к ним относятся рецепторы для тромбоцитарного фактора роста [6], фактора роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF) [7], колониестимулирующего фактора-1 [8], фактора роста кератиноцитов [9], фактора роста фибробластов [10], трансформирующего фактора роста- β [11], фактора роста нервов, интерлейкина-1 и интерлейкина-6 [12].

В ряде исследований рецептору эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) отводится особая роль. В моделях на грызунах стимуляция тканей эпидермальным фактором роста (epidermal growth factor, EGF) ускоряла заживление ран эпителия роговицы в два раза, и наоборот, добавление ингибиторов EGFR (например, AG1478) к поврежденному эпителию роговицы предотвращало заживление [13].

Другой важной молекулой, экспрессируемой эпителием роговицы, является трансформирующий фактор роста- β (transforming growth factor, TGF). Его изоформы TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3 обладают разнонаправленным действием в отношении индукции механизмов репарации роговицы путем усиления или подавления пролиферации эпителиоцитов и кератиноцитов.

Целью исследования явилось выявление клинико-иммунологических параллелей при различных формах персистирующего эпителиального дефекта аллотрансплантата роговицы на основе показателей оптической когерентной томографии и динамики концентраций эпидермального фактора роста и трансформирующего фактора роста- β 1 в слезной жидкости.

Материалы и методы

Проведено проспективное нерандомизированное клинико-иммунологическое исследование, включающее обследование 48 пациентов с патологией роговицы из группы «высокого риска» отторжения, которым в период с 2019 по 2023 годы на базе регионального офтальмологического центра ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» проводилась сквозная кератопластика.

Среди пациентов было 30 мужчин (65,9%) и 18 женщин (34,1%) в возрасте от 35 до 60 лет, средний возраст составил $48,1 \pm 5,4$ года. Отбор пациентов для исследования осуществляли методом сплошной выборки.

Всем пациентам проводилась сквозная кератопластика по стандартной технологии с наложением

непрерывного кругового шва. Время от взятия донорского материала до операции во всех случаях составляло от 18 до 24 часов. Консервация роговичных дисков проводилась в стандартной среде Борзенка-Мороз.

Всем пациентам до операции выполнена оценка лимбальных палисад Фогта по известной методике как маркеров наличия лимбальных стволовых клеток.

Критерием исключения из исследования был синдром лимбальной недостаточности.

Наблюдаемые пациенты в послеоперационном периоде были разделены на четыре группы: группа №1 – пациенты с первичной персистирующей эрозией трансплантата роговицы (n=15); группа №2 – пациенты с длительно персистирующей эрозией трансплантата (n=10); группа №3 – пациенты с персистирующей эрозией трансплантата (n=13); группа №4 – пациенты с рецидивом персистирующей эрозии роговичного трансплантата (n=10). В качестве сравнения использовали слезную жидкость здоровых лиц (n=15), контрольная группа.

Иммунологическое исследование концентраций эпидермального фактора роста (EGF) и трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1) в слезной жидкости проводилось на 2, 10, 30 и 45 день после операции. Иммунологическое исследование выполнено методом мультиплексного анализа на иммуноанализаторе Bio-Plex MAGPIX® System (Luminex, США) с использованием тест-системы Multiplex (Luminex, США). От пациентов было получено информированное согласие о цели взятия биологического материала. Для оценки эпителизации трансплантата проводилась стандартная биомикроскопия с фоторегистрацией переднего отрезка глаза и оптическая когерентная томография (Optopol Technology Revo NX, Польша) по известным протоколам Radial и 3D с оценкой центральной толщины, архитектоники и эпителизации роговичного трансплантата.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением методов непараметрической статистики, выполнена в среде Windows XP, пакет прикладных программ Statistica for Windows v.10.0. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25-Q75).

Результаты

Результаты определения уровней факторов роста в слезной жидкости и данных клинико-инструментального обследования пациентов группы 1 в динамике наблюдения представлены в таблице 1.

Установлено, что концентрация EGF в слезной жидкости пациентов с первичной персистирующей эрозией трансплантата на 2 и 14 сутки наблюдения была значимо снижена в сравнении с контрольной группой, с постепенным нарастанием концентрации к 30 и максимально к 45 суткам наблюдения, при этом уровень TGF- β 1 во все дни наблюдения оставался на уровне здоровых лиц. Протяженность эпителиального дефекта закономерно уменьшалась до полного закрытия эрозии на 30 сутки по мере нарастания концентрации EGF.

Клиническое наблюдение (группа №1)

Пациент А., мужчина 36 лет. Сквозная кератопластика выполнена по поводу рубцового помутнения роговицы вследствие перенесенного бактериального кератита. Эпителизация трансплантата не завершилась на 14 день после операции (Рис. 1б), и состояние трактовалось как первичная персистирующая эрозия трансплантата роговицы. К 25 дню послеоперационного наблюдения завершилась полная эпителизация (Рис. 1в).

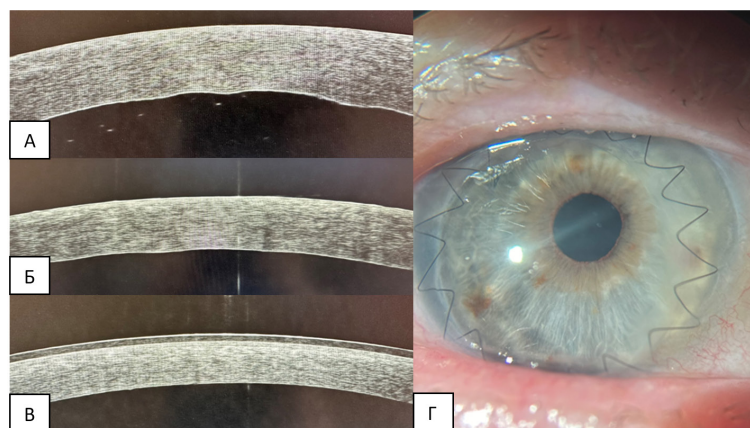


Рисунок 1. Состояние трансплантата роговицы пациента А. по данным оптической когерентной томографии и биомикроскопии

Примечание: а – эпителий отсутствует, отек стромы, складки десцеметовой оболочки (2 сутки наблюдения); б – неполная эпителизация (14 сутки); в – полная эпителизация, контактная линза (30 сутки); г – трансплантат прозрачный, края раны адаптированы

Figure 1. The condition of the corneal transplant of patient A. according to optical coherence tomography and biomicroscopy

Note: a – no epithelium, edema of the stroma, folds of the descemet shell (2 day of observation); б – incomplete epithelialization (14 day); в – complete epithelialization, contact lens (30 day); г – graft is transparent, the edges of the wound are adapted

Таблица 1

Концентрация EGF и TGF-1 β в слезной жидкости, параметры оптической когерентной томографии трансплантата роговицы пациентов группы №1

Table 1

Concentration of EGF and TGF-1 β in lacrimal fluid, parameters of optical coherence tomography of corneal transplant in group 1 patients

Показатели Indicators	Группа контрольная (возрастная норма) Control group (age norm)	Дни наблюдения Days of observation			
		2 сутки 2 days	14 сутки 14 days	30 сутки 30 days	45 сутки 45 days
EGF, нг/мл EGF, ng/ml	3,2 (1,7-6,7)	0,6 (0,1-0,8)*	0,7 (0,4-1,1)*	2,1 (1,7-2,7)**	8,33 (7,8-8,6)**
TGF- β 1, пг/мл TGF- β 1, pg/ml	46,5 (41,8-49,7)	41,3 (38,6-43,1)	42,9 (39,2-45,7)	58,2 (54,7-60,4)	38,7 (34,1-40,6)
Протяженность эпителиального дефекта, мкм The extent of the epithelial defect, microns	-	1050,9 (878,1-1116,2)	890,2 (541,01-1003,2)	0	0
Минимальная высота трансплантата, мкм Minimum graft height, microns	-	663,2 (638,2-693,3)	624,2 (603,3-697,4)	601,2 (581,2-646,3)	578,2 (554,1-573,1)

Примечание: EGF – epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста; TGF- β 1 – transforming growth factor, трансформирующий фактор роста; данные представлены в виде Me (Q25-Q75); * – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с группой здоровых лиц; ** – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с показателями на 2 и 14 сутки

Note: EGF – epidermal growth factor; TGF- β 1 – transforming growth factor; the data are presented in the form of lu (Q25-Q75); * – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with a group of healthy individuals; ** – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with indicators on days 2 and 14

В группе №2, пациентов с длительно персистирующей эрозией трансплантата, уровень эпителиального фактора роста на протяжении всего периода наблюдения оставался на значимо низком уровне в сравнении с контрольной группой (Табл. 2). В то же время, концентрация TGF-β1 регистрировалась на уровне здоровых лиц и не изменялась в динамике. Данные оптической когерентной томографии демонстрируют отсутствие эпителизации эрозивного дефекта роговицы на протяжении всего периода наблюдения с некоторой тенденцией к уменьшению протяженности эпителиального дефекта.

Клиническое наблюдение (группа №2)

Пациент Г., мужчина 52 года. Выполнена сквозная кератопластика по поводу перфорации роговицы на фоне язвы роговицы. Эпителизация трансплантата не завершилась на 45 сутки послеоперационного периода (Рис. 2б-г). Несмотря на активную консервативную терапию, констатирована рубцовая трансформация экстрацеллюлярного матрикса трансплантата роговицы с потерей прозрачности и уменьшением толщины на периферии (Табл. 2).

Таблица 2
Концентрация EGF и TGF-β1 в слезной жидкости, параметры оптической когерентной томографии трансплантата роговицы в группе №2
Table 2
Concentration of EGF and TGF-1β in lacrimal fluid, parameters of optical coherence tomography of corneal transplant in group №2

Показатели Indicators	Группа контрольная (возрастная норма) Control group (age norm)	Дни наблюдения Days of observation			
		2 сутки 2 days	14 сутки 14 days	30 сутки 30 days	45 сутки 45 days
EGF, нг/мл EGF, ng/ml	3,2 (1,7-6,7)	0,07 (0,01-0,11)*	0,10 (0,08-0,17)*	0,09 (0,06-0,13)*	0,07 (0,04-0,11)*
TGF-β1, пг/мл TGF-β1, pg/ml	46,5 (41,8-49,7)	41,3 (38,7-43,1)	52,9 (49,8-54,1)	59,3 (55,8-63,6)*, **	71,2 (67,5; 74,8)*, **
Протяженность эпителиального дефекта, мкм The extent of the epithelial defect, microns	-	1115,2 (1057,1-1198,3)	987,1 (874,4- 1036,3)	911,1 (769,1-1021,2)	774,4 (623,2-796,1)
Минимальная высота трансплантата, мкм Minimum graft height, microns	-	625,1 (611,2-647,3)	620,4 (609,6-649,4)	614,6 (605,2-621,3)	427,2 (247,3- 556,2)

Примечание: EGF – epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста; TGF-β1 – transforming growth factor, трансформирующий фактор роста; данные представлены в виде Me (Q25-Q75); * – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с группой здоровых лиц; ** – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с показателями на 2 и 14 сутки

Note: EGF – epidermal growth factor; TGF-β1 – transforming growth factor; the data are presented in the form of lu (Q25-Q75); * – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with a group of healthy individuals; ** – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with indicators on days 2 and 14

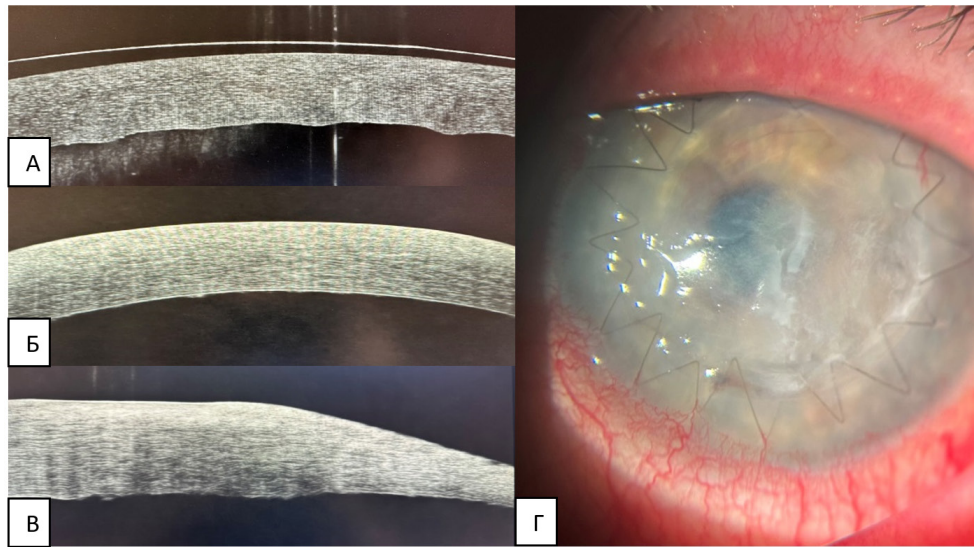


Рисунок 2. Состояние трансплантата роговицы пациента Г. по данным оптической когерентной томографии и биомикроскопии

Примечание: а – эпителий отсутствует, строма утолщена, складки десцеметовой оболочки, контактная линза; б – неполная эпителизация, однородная зона гиперрефлективности в наружных слоях (инициация процессов рубцовой трансформации); в – неполная эпителизации, однородная зона гиперрефлективности во всех слоях трансплантата (рубцовая трансформация) с истончением по краю; г – отек трансплантата, эрозия, признаки рубцевания стромы с истончением по краю

Figure 2. The condition of the corneal transplant of patient G. according to optical coherence tomography and biomicroscopy

Note: а – epithelium is missing, stroma is thickened, folds of the descemet shell, contact lens; б – incomplete epithelialization, homogeneous hyperreflexion zone in the outer layers (initiation of scar transformation processes); в – incomplete epithelialization, homogeneous hyperreflexion zone in all layers graft (scar transformation) with thinning along the edge; г – edema of the graft, erosion, signs of scarring of the stroma with thinning along the edge

В группе №3 продемонстрирована ситуация, при которой эрозивный дефект трансплантата роговицы полностью эпителизирован на 6 сутки наблюдения, параллельно в слезной жидкости отмечалось нарастание концентрации EGF от 2 к 14 суткам, далее значимое снижение к 30 суткам наблюдения и незначительная тенденция к повышению на 45 сутки. Уровень TGF- β 1 в динамике оставался значимо сниженным на протяжении всего периода наблюдения в сравнении с группой здоровых лиц (Табл. 3), что, вероятно, свидетельствует о нарушении баланса интраокулярной иммуносупрессивной среды.

Концентрация EGF и TGF- β 1 в слезной жидкости, параметры оптической когерентной томографии трансплантата роговицы в группе №3

Table 3

Concentration of EGF and TGF- β 1 in lacrimal fluid, parameters of optical coherence tomography of corneal transplant in group №3

Показатели Indicators	Группа контрольная (возрастная норма) Control group (age norm)	Дни наблюдения Days of observation			
		2 сутки 2 days	14 сутки 14 days	30 сутки 30 days	45 сутки 45 days
EGF, нг/мл EGF, ng/ml	3,25 (1,7-6,7)	3,3 (2,7-3,5)	6,1 (5,9-6,3)	1,1 (0,7- 1,6)*, **	2,5 (1,5-3,7)
TGF- β 1, пг/мл TGF- β 1, pg/ml	46,5 (41,8-49,7)	21,3 (20,1-24,5)*	23,7 (21,1-26,2)*	19,2 (17,1- 20,16)*	15,4 (13,2-17,4)*
Протяженность эпителиального дефекта, мкм The extent of the epithelial defect, microns	-	1015,2 (978,4-1114,2)	0	756,4 (436,7- 897,6)	0
Минимальная высота трансплантата, мкм Minimum graft height, microns	-	668,2 (641,2-679,4)	620,2 (607,3-635,2)	644,3 (627,2- 712,2)	571,3 (567,6-589,4)

Примечание: EGF – epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста; TGF- β 1 – transforming growth factor, трансформирующий фактор роста; данные представлены в виде Me (Q25-Q75); * – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с группой здоровых лиц; ** – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с показателями на 2, 14, 45 сутки

Note: EGF – epidermal growth factor; TGF- β 1 – transforming growth factor; the data are presented in the form of lu (Q25-Q75); * – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with a group of healthy individuals; ** – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with indicators on days 2, 14 and 45

Клиническое наблюдение (группа №3)

Пациент К., мужчина 45 лет. Показанием к сквозной кератопластике явилось рубцовое помутнение роговицы на фоне перенесенного вирусного кератита. Полная эпителизация трансплантата наступила на 6 день послеоперационного периода (Рис. 3б), однако на 15 сутки регистрировался вновь возникший эпителиальный дефект, увеличивавшийся к 20 суткам (Рис. 3в). На 45 сутки послеоперационного периода достигнута полная эпителизация трансплантата (Рис. 3г-д, Табл. 3).

У пациентов с рецидивом персистирующей эрозии роговичного трансплантата (группа № 4) концентрация EGF на 14, 30 и 45 сутки была значимо снижена в сравнении с группой здоровых лиц, в то время как уровень TGF- β 1, напротив, начиная со 2 суток наблюдения, демонстрировал стабильно высокий уровень на протяжении всего периода исследования, значимо отличаясь от показателей контрольной группы. Данные оптической когерентной томографии наглядно отражают клиническую картину (Табл. 4).

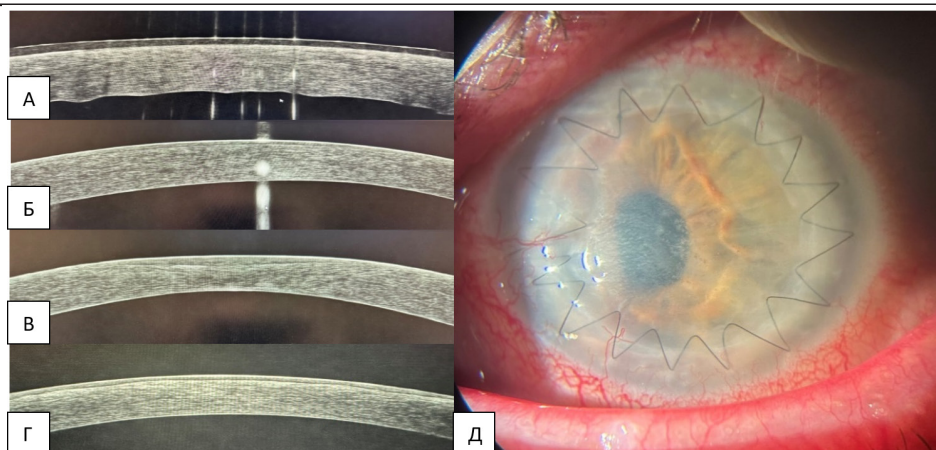


Рисунок 3. Состояние трансплантата роговицы пациента К. по данным оптической когерентной томографии и биомикроскопии

Примечание: а – эпителий отсутствует, отек стромы, складки десцеметовой оболочки, контактная линза; б – полная эпителизация (6 сутки); в – эпителий отсутствует, нарушение архитектоники наружных слоев стромы (20 сутки); г – эпителий состоятелен, субэпителиальные гиперрефлективные очаги; д – трансплантат эпителизирован, субэпителиальные множественные помутнения

Figure 3. The condition of the corneal transplant of patient K. according to optical coherence tomography and biomicroscopy

Note: a – epithelium is absent, stroma edema, descemet folds, contact lens; б – complete epithelialization (day 6); в – epithelium is absent, violation of the architectonics of the outer layers of the stroma (20 day); г – epithelium is composed, subepithelial hyperreflective foci; д – graft is epithelized, subepithelial multiple opacities

Таблица 4

Концентрация EGF и TGF-β1 в слезной жидкости, параметры оптической когерентной томографии трансплантата роговицы в группе №4

Table 4

Concentration of EGF and TGF-1β in lacrimal fluid, parameters of optical coherence tomography of corneal transplant in group №4

Показатели Indicators	Группа контрольная (возрастная норма) Control group (age norm)	Дни наблюдения Days of observation			
		2 сутки 2 days	14 сутки 14 days	30 сутки 30 days	45 сутки 45 days
EGF, нг/мл EGF, ng/ml	3,2 (1,7-6,7)	2,2 (1,9-2,4)	1,4 (1,2-1,6)*	1,2 (0,9-1,4)*	1,5 (1,3-1,7)*
TGF-β1, пг/мл TGF-β1, pg/ml	46,5 (41,8-49,7)	69,3 (64,4- 73,1)*	71,9 (67,4-76,3)*	74,2 (69,7-78,0)*	72,3 (67,5-77,6)*
Протяженность эпителиального дефекта, мкм The extent of the epithelial defect, microns	-	562,2 (402,2-611,3)	867,4 (695,5-901,2)	0	786,3 (621,1-832,6)
Минимальная высота трансплантата, мкм Minimum graft height, microns	-	668,1 (647,4-682,3)	672,4 (654,3-694,6)	597,1 (581,2-607,6)	599,1 (564,1-621,6)

Примечание: EGF – epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста; TGF-β1 – transforming growth factor, трансформирующий фактор роста; данные представлены в виде Me (Q25-Q75); * – значимые ($p \leq 0,05$) согласно критерия Манна-Уитни различия с группой здоровых лиц

Note: EGF – epidermal growth factor; TGF-β1 – transforming growth factor; the data are presented in the form of lu (Q25-Q75); * – significant ($p \leq 0.05$) differences according to the Mann-Whitney criterion with a group of healthy individuals

Клиническое наблюдение (группа №4)

Пациент В., женщина 47 лет. Сквозная кератопластика выполнена по поводу посттравматического рубцового помутнения роговицы. Полная эпителизация трансплантата наступила на 5 сутки послеоперационного периода (Рис. 4а). На 18 сутки регистрировался вновь возникший эпителиальный дефект (Рис. 4б), который ликвидирован к 30 суткам (Рис. 4в). На 43 сутки послеоперационного периода отмечалась повторная рецидивирующая эрозия трансплантата (Рис. 4г-д, Табл. 4) с формированием (по данным оптической когерентной томографии) рубцовой трансформации и уменьшением толщины в центральных отделах.

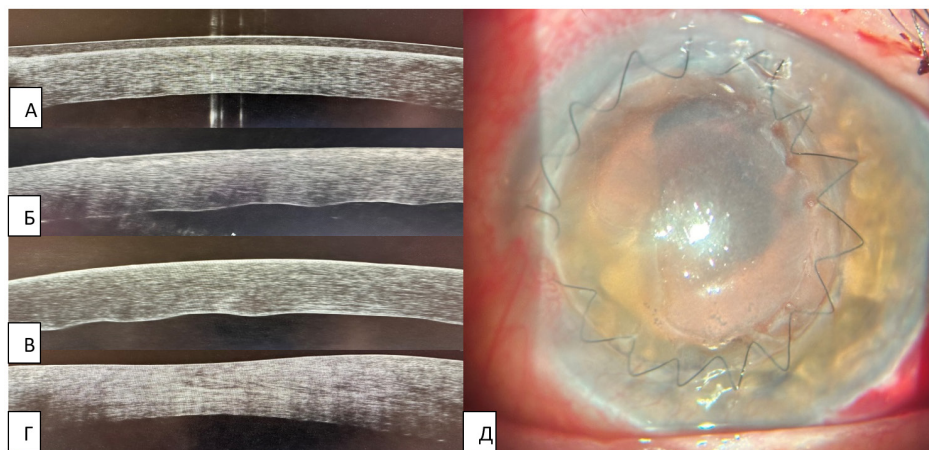


Рисунок 4. Состояние трансплантата роговицы пациента В. по данным оптической когерентной томографии и биомикроскопии

Примечание: а – эпителизация полная, контактная линза; б – эпителий отсутствует частично, складки десцеметовой оболочки; в – эпителизация полная, складки десцеметовой оболочки; г – эпителий отсутствует, архитектура стомы нарушена, зоны гомогенной гиперрефлексивности (рубцовая трансформация); д – трансплантат эрозирован, отечен, рубцово изменен

Figure 4. The condition of the corneal transplant of patient B. according to optical coherence tomography and biomicroscopy

Note: a – complete epithelialization, contact lens; б – partially missing epithelium, descemet shell folds; в – complete epithelialization, descemet shell folds; г – epithelium is missing, stoma architectonics is impaired, zones of homogeneous heperreflexion (scar transformation); д – graft is eroded, swollen, scarred

Обсуждение

Ранние этапы репарации роговичного трансплантата инициируются миграцией и пролиферацией клеток роговичного эпителия [14]. На ранних этапах репарации процесс запускается включением клеточной сигнализации с участием тирозинкины рецептора EGF (EGFR), приводящей к активации нижестоящих ключевых эффекторов. В частности, активируется сигнальный путь NF-κB, что стимулирует репрессор транскрипции CTCF и снижает регуляцию PAX6 [15], происходит запуск миграции и пролиферации эпителиальных клеток роговицы [16]. Ещё одна молекула, активируемая через сигнализацию EGFR - это гистондеацетилаза 6 (HDAC6), которая деацетилирует α-тубулин, способствует миграции клеток поверхностного слоя роговицы и заживлению дефектов эпителия после дебридмента. Ряд исследований в моделях ингибирования отрицательного регулятора EGF убиквитинлигазы E3 (c-Cbl) подтвердили важность эпидермального фактора роста в миграции эпителиальных клеток и увеличении скорости восстановления эпителиального слоя роговицы как *in vitro*, так и *in vivo* [17]. Известно около шести лигандов EGFR, но только EGF может способствовать заживлению ран *in vivo*, и это единственный лиганд, присутствующий в концентрациях, близких к уровню лиганда для EGFR в слезной жидкости человека [18]. Эти данные подтверждаются клиническими отчетами, свидетельствующими о том, что у пациентов, которые принимали ингибиторы EGFR (например, цетуксимаб, эрлотиниб, gefitinib) для лечения некоторых видов рака, наблюдалась повышенная частота встречаемости осложнений, касающихся патологии роговицы [19].

С другой стороны, необходимость ремоделирования тканей после аллотрансплантации роговицы

способствует миграции и накоплению в окружающих тканях фибробластов, секретирующих, наряду с лимфоидными клетками, молекулы семейства трансформирующих факторов роста-бета. Известно, что TGF- β 1 и TGF- β 2 оказывают антагонистическое действие на пролиферацию и эпителизацию роговицы, вызванную EGF *in vitro* [20]. Этот вопрос был предметом ряда исследований, посвященных регулируемым изменениям фенотипов стромальных клеток при заживлении ран роговицы. Известно, что на ранней стадии заживления дезэпителизированной раны, покоящиеся кератоциты на краях дефекта, изменяют свои свойства, чтобы активироваться в фибробласты. Эти клетки входят в клеточный цикл и приобретают миграционные свойства, необходимые для репарации раны [21]. Достигнув раневого ложа, фибробласты начинают экспрессировать α -гладкомышечный актин α -SMA и десмин, усиливают экспрессию виментина [22], становясь высокоподвижными сократительными миофибробластами, которые необходимы для реорганизации экстрацеллюлярного матрикса раны и её заживления. Эти клетки также формируют временный внеклеточный матрикс, обогащённый фибронектином и другими белками, такими как тенасцин-С и коллаген типа III. Весь этот сложный восстановительный механизм заканчивается процессами рубцевания, что, с одной стороны, положительно влияет на барьерные свойства трансплантата, с другой – негативно сказывается на его оптических функциях. Судьба миофибробластов после завершения рубцевания неясна, предполагается, что они могут погибнуть в результате апоптоза и/или стать рубцовыми кератоцитами. Согласно общепринятым представлениям, активация миофибробластов инициируется TGF- β 1 *in vivo*, что подтверждается результатами многочисленных исследований *in vitro* [19, 20, 21, 22]. Ряд работ демонстрирует участие мощного митогена PDGF (platelet-derived growth factor фактор роста тромбоцитов) в этом процессе, причём комбинация TGF- β и PDGF оказывается более эффективной, чем каждый из них по отдельности. Важно отметить, что только TGF- β 1 и TGF- β 2 участвуют в этом процессе, в то время как TGF- β 3 не способен преобразовывать фибробласты в миофибробласты [23].

Безусловно, повреждение эпителиального слоя роговицы запускает типовой патологический воспалительный процесс. В части описанных нами случаев длительно персистирующий эпителиальный дефект приводит к альтерации и утрате барьерной базальной мембраны и подлежащих слоев трансплантата роговицы. Провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) и интерлейкин-1 (IL-1), опосредуют воспаление и параллельно стимулируют фибробласты, эндотелиоциты, кератиноциты к выработке факторов роста, ответственных за запуск репаративных процессов в ране, пролиферацию и миграцию эпителиальных клеток. В свою очередь факторы роста способствуют синтезу протеаз, таких как матриксные металлопротеиназы, опосредуя ремоделирование стромы трансплантата, а в условиях избытка – её расплавление, дезадаптацию краев или перфорацию трансплантата с потерей не только зрительных функций, но и глаза как органа [24].

Заключение

Морфофункциональная целостность трансплантата роговицы напрямую зависит от тонкой регуляторной настройки баланса регуляции процессов апоптоза, воспаления, пролиферации, дифференцировки и секреторной активности клеточного сообщества заинтересованных тканей. Важнейшую роль в координации репаративно-ремоделирующих процессов роговицы играют факторы роста EGF и TGF- β 1, что нами наглядно продемонстрировано на различных клинических примерах в группах пациентов «высокого риска» отторжения, перенесших сквозную кератопластику. Нами показана прямая зависимость успешности эпителизации роговичного дефекта от концентрации эпидермального фактора роста и нарушение процесса репарации в виде патологического рубцевания при избыточной продукции трансформирующего фактора роста - β 1. Таким образом, изучение уровней EGF и TGF- β 1 в слезной жидкости пациентов «высокого риска» отторжения трансплантата после проведения сквозной кератопластики может служить прогностическим ориентиром вероятного исхода успешной имплантации донорской роговицы и являться маркером «срока жизни» аллотрансплантата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maharana P.K., Mandal S., Kaweri L., Sahay P., Lata S., Asif M. I., Sharma N. Immunopathogenesis of corneal graft rejection. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2023; 71(5):1733-1738. doi:10.4103/IJO.IJO_2866_22.
2. Vaidyanathan U., Hopping G.C., Liu H.Y., Somani A.N., Ronquillo Y.C., Hoopes P.C., Moshirfar M. Persistent corneal epithelial defects: a review article. *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in*

Ophthalmology. 2019; 8(3):163.

3. Хазамова А.И., Ченцова Е.В., Кугушева А.Э., Слепова О.С., Макаров П.В. Персистирующие эрозии роговичного трансплантата: анализ причин, хирургические методы лечения и профилактики. Научно-практический журнал. 2016; 135(1):28. doi:10.21516/2072-0076-2023-16-3-94-99.

4. Wan S., Cheng J., Dong Y., Xie L. Epithelial defects after penetrating keratoplasty in infectious keratitis: An analysis of characteristics and risk factors. PLoS One. 2018; 13(11):208. doi:10.1371/journal.pone.0208163.

5. Fu-Shin X.Y., Yin J., Xu K., Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. Brain research bulletin. 2010; 81(2-3):229-235. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.08.024.

6. Hoppenreijns V.P., Pels E., Vrensen G.F., Felten P.C., Treffers W.F. Platelet-derived growth factor: Receptor expression in corneas and effects on corneal cells. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993; 34:637–649.

7. Wilson S.E., He Y.G., Weng J., Zieske J.D., Jester J.V., Schultz G.S. Effect of epidermal growth factor, hepatocyte growth factor, and keratinocyte growth factor, on proliferation, motility and differentiation of human corneal epithelial cells. Exp. Eye Res. 1994; 59:665–678. doi:10.1006/exer.1994.1152.

8. Rho C.R., Park M.Y., Kang S. Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating (GM-CSF) factor on corneal epithelial cells in corneal wound healing model. PLoS ONE. 2015; 10:e0138020. doi:10.1371/journal.pone.0138020.

9. Shin E., Lim D.H., Han J., Nam D.-H., Park K., Ahn M.-J., Kang W.K., Lee J., Ahn J.S., Lee S.-H., et al. Markedly increased ocular side effect causing severe vision deterioration after chemotherapy using new or investigational epidermal or fibroblast growth factor receptor inhibitors. BMC Ophthalmol. 2020; 20:19. doi:10.1186/s12886-019-1285-9.

10. Carrington L.M., Albon J., Anderson I., Kamma C., Boulton M. Differential regulation of key stages in early corneal wound healing by TGF-beta isoforms and their inhibitors. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2006; 47:1886–1894. doi:10.1167/iovs.05-0635.

11. Wilson S.E., Esposito A. Focus on molecules: Interleukin-1: A master regulator of the corneal response to injury. Exp. Eye Res. 2009; 89:124–125. doi:10.1016/j.exer.2009.02.011.

12. Rush J.S., Bingaman D.P., Chaney P.G., Wax M.B., Ceresa B.P. Administration of menadione, vitamin K3, ameliorates off-target effects on corneal epithelial wound healing due to receptor tyrosine kinase inhibition. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 2016; 57:5864–5871. doi:10.1167/iovs.16-19952.

13. Rush J.S., Peterson J.L., Ceresa B.P. Betacellulin (BTC) biases the EGFR to dimerize with ErbB3. Mol. Pharmacol. 2018; 94:1382–1390. doi:10.1124/mol.118.113399.

14. Wang L., Deng S.X., Lu L. Role of CTCF in EGF-induced migration of immortalized human corneal epithelial cells. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012; 53:946–951. doi:10.1167/iovs.11-8747.

15. Wang L., Wu X., Shi T., Lu L. Epidermal growth factor (EGF)-induced corneal epithelial wound healing through nuclear factor κ B subtype-regulated CCCTC binding factor (CTCF) activation. J. Biol. Chem. 2013; 288:24363–24371. doi:10.1074/jbc.M113.458141.

16. Ljubimov A.V., Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. Progress in retinal and eye research. 2015; 49:17-45. doi:10.1016/j.preteyeres.2015.07.002.

17. Morishige N., Hatabe N., Morita Y., Yamada N., Kimura K., Sonoda K.-H. Spontaneous healing of corneal perforation after temporary discontinuation of erlotinib treatment. Case Rep. Ophthalmol. 2014; 5:6-10. doi:10.1159/000358082.

18. Hachana S., Larrivée B. TGF- β superfamily signaling in the eye: implications for ocular pathologies. Cells. 2022; 11(15):2336. doi:10.3390/cells11152336.

19. Sun M., Koudouna E., Cogswell D., Avila M. Y., Koch M., Espana E.M. Collagen XII regulates corneal stromal structure by modulating transforming growth factor- β activity. The American Journal of Pathology. 2022; 192(2):308-319. doi:10.1016/j.ajpath.2021.10.014.

20. Baik J.E., Park H.J., Kataru R.P., Savetsky I.L., Ly C.L., Shin J., Mehrara B.J. TGF- β 1 mediates pathologic changes of secondary lymphedema by promoting fibrosis and inflammation. Clinical and Translational Medicine. 2022; 12(6):e758. doi:10.1002/ctm2.758.

21. Santerre K., Ghio S.C., Proulx S. TGF- β -mediated modulation of cell–cell interactions in postconfluent maturing corneal endothelial cells. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2022; 63(11):3-3. doi:10.1167/iovs.63.11.3.

22. Wilson S.E. Topical losartan: practical guidance for clinical trials in the prevention and treatment of corneal scarring fibrosis and other eye diseases and disorders. Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics.

2023; 39(3):191-206. doi:10.1089/jop.2022.0174.

23. Acosta A.C., Joud H., Sun M., Avila M.Y., Margo C.E., Espana E.M. Keratocyte-Derived Myofibroblasts: Functional Differences With Their Fibroblast Precursors. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2023; 64(13):9-9. doi:10.1167/iovs.64.13.9.

Авторы

Быстров Алексей Михайлович

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная клиническая больница»

Врач-офтальмолог офтальмологического отделения №1

Челябинск, Российская Федерация

highvision@bk.ru

Давыдова Евгения Валерьевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России)

Д.м.н., профессор кафедры спортивной медицины и реабилитации

Челябинск, Российская Федерация

davidova-ev.med@yandex.ru

Кузнецов Андрей Александрович

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная клиническая больница»

К.м.н., заведующий офтальмологическим центром

Челябинск, Российская Федерация

cheloptic@mail.ru

A.M. Bystrov¹, E.V. Davydova^{1,2}, A.A. Kuznetsov¹

THE RELATIONSHIP BETWEEN EGF AND TGF- β 1 IN THE LACRIMAL FLUID OF PATIENTS WITH PERSISTENT EROSION OF THE CORNEAL GRAFT DURING HIGH-RISK THROUGH KERATOPLASTY

¹Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation;

²South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Persistent erosion of the corneal graft is one of the common complications of end-to-end keratoplasty. A cascade of physiological mechanisms is involved in maintaining the integrity of the corneal surface. The immunocompromised intraocular environment in patients from the «high risk» group of corneal transplant rejection is characterized by a violation of the balance of proinflammatory and repair-promoting factors in the early postoperative period. Growth factors Epithelialization indicators have important prognostic value in relation to the expected «life span» of the transplant. *The aim of the study* was to identify clinical and immunological parallels in various forms of persistent corneal allograft epithelial defect based on optical coherence tomography and dynamics of concentrations of epidermal growth factor (EGF) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in lacrimal fluid. *Materials and methods.* 38 patients participated in the study. Among the patients there were 25 men (65.9%) and 13 women (34.1%) aged 35 to 60 years, the average age was 48.1 \pm 5.4 years. The patients were divided into 4 groups depending on the characteristics of the course of postoperative epithelialization of the graft. The levels of epidermal growth factor and transforming growth factor- β 1 in lacrimal fluid were determined using multiplex analysis on the

Bio-Plex MAGPIX® System immunoanalyzer (Luminex, USA) using the Multiplex test system (Luminex, USA) in dynamics on the 2, 14, 30 and 45 days of the postoperative period. The graft condition was assessed during biomicroscopy and optical coherence tomography of the anterior segment. **The results of the study** revealed clinical and immunological features demonstrating the dependence of the success of corneal defect epithelialization on the concentration of epidermal growth factor and a violation of the repair process in the form of pathological scarring with excessive production of transforming growth factor - β 1. **Conclusion:** the study of EGF and TGF- β 1 levels in the lacrimal fluid of «high-risk» patients after end-to-end keratoplasty can serve as a prognostic guideline for the likely outcome of successful implantation of a donor cornea.

Keywords: keratoplasty, optical coherence tomography, transforming growth factor beta, epidermal growth factor

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Aleksey M. Bystrov

highvision@bk.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Bystrov A.M., Davydova E.V., Kuznetsov A.A. The relationship between EGF and TGF-B1 in the lacrimal fluid of patients with persistent erosion of the corneal graft during high-risk through keratoplasty. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 3, pp. 262–275. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-262-275 (In Russ)

REFERENCES

1. Maharana P.K., Mandal S., Kaweri L., Sahay P., Lata S., Asif M. I., Sharma N. Immunopathogenesis of corneal graft rejection. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2023; 71(5):1733-1738. doi:10.4103/IJO.IJO_2866_22.
2. Vaidyanathan U., Hopping G.C., Liu H.Y., Somani A.N., Ronquillo Y.C., Hoopes P.C., Moshirfar M. Persistent corneal epithelial defects: a review article. *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in Ophthalmology*. 2019; 8(3):163.
3. Khazanova A.I., Chentsova E.V., Kugusheva A.E., Slepova O.S., Makarov P.V. Persistent erosion of the corneal graft: analysis of causes, surgical methods of treatment and prevention [Persistirujushhie jerozii rogovichnogo transplantata: analiz prichin, hirurgicheskie metody lechenija i profilaktiki]. *Scientific and practical journal=Nauchno-prakticheskij zhurnal*. 2016; 135(1):28. doi:10.21516/2072-0076-2023-16-3-94-99.(In Russ)
4. Wan S., Cheng J., Dong Y., Xie L. Epithelial defects after penetrating keratoplasty in infectious keratitis: An analysis of characteristics and risk factors. *PLoS One*. 2018; 13(11):208. doi:10.1371/journal.pone.0208163.
5. Fu-Shin X.Y., Yin J., Xu K., Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain research bulletin*. 2010; 81(2-3):229-235. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.08.024.
6. Hoppenreijts V.P., Pels E., Vrensen G.F., Felten P.C., Treffers W.F. Platelet-derived growth factor: Receptor expression in corneas and effects on corneal cells. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 1993; 34:637–649.
7. Wilson S.E., He Y.G., Weng J., Zieske J.D., Jester J.V., Schultz G.S. Effect of epidermal growth factor, hepatocyte growth factor, and keratinocyte growth factor, on proliferation, motility and differentiation of human corneal epithelial cells. *Exp. Eye Res*. 1994; 59:665–678. doi:10.1006/exer.1994.1152.
8. Rho C.R., Park M.Y., Kang S. Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating (GM-CSF) factor on corneal epithelial cells in corneal wound healing model. *PLoS ONE*. 2015; 10:e0138020. doi:10.1371/journal.pone.0138020.
9. Shin E., Lim D.H., Han J., Nam D.-H., Park K., Ahn M.-J., Kang W.K., Lee J., Ahn J.S., Lee S.-H., et al. Markedly increased ocular side effect causing severe vision deterioration after chemotherapy using new or investigational epidermal or fibroblast growth factor receptor inhibitors. *BMC Ophthalmol*. 2020; 20:19. doi:10.1186/s12886-019-1285-9.
10. Carrington L.M., Albon J., Anderson I., Kamma C., Boulton M. Differential regulation of key stages in early corneal wound healing by TGF-beta isoforms and their inhibitors. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2006; 47:1886–1894. doi:10.1167/iovs.05-0635.
11. Wilson S.E., Esposito A. Focus on molecules: Interleukin-1: A master regulator of the corneal response

to injury. *Exp. Eye Res.* 2009; 89:124–125. doi:10.1016/j.exer.2009.02.011.

12. Rush J.S., Bingaman D.P., Chaney P.G., Wax M.B., Ceresa B.P. Administration of menadione, vitamin K3, ameliorates off-target effects on corneal epithelial wound healing due to receptor tyrosine kinase inhibition. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2016; 57:5864–5871. doi:10.1167/iovs.16-19952.

13. Rush J.S., Peterson J.L., Ceresa B.P. Betacellulin (BTC) biases the EGFR to dimerize with ErbB3. *Mol. Pharmacol.* 2018; 94:1382–1390. doi:10.1124/mol.118.113399.

14. Wang L., Deng S.X., Lu L. Role of CTCF in EGF-induced migration of immortalized human corneal epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012; 53:946–951. doi:10.1167/iovs.11-8747.

15. Wang L., Wu X., Shi T., Lu L. Epidermal growth factor (EGF)-induced corneal epithelial wound healing through nuclear factor κ B subtype-regulated CCCTC binding factor (CTCF) activation. *J. Biol. Chem.* 2013; 288:24363–24371. doi:10.1074/jbc.M113.458141.

16. Ljubimov A.V., Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Progress in retinal and eye research.* 2015; 49:17-45. doi:10.1016/j.preteyeres.2015.07.002.

17. Morishige N., Hatabe N., Morita Y., Yamada N., Kimura K., Sonoda K.-H. Spontaneous healing of corneal perforation after temporary discontinuation of erlotinib treatment. *Case Rep. Ophthalmol.* 2014; 5:6-10. doi:10.1159/000358082.

18. Hachana S., Larrivée B. TGF- β superfamily signaling in the eye: implications for ocular pathologies. *Cells.* 2022; 11(15):2336. doi:10.3390/cells11152336.

19. Sun M., Koudouna E., Cogswell D., Avila M. Y., Koch M., Espana E.M. Collagen XII regulates corneal stromal structure by modulating transforming growth factor- β activity. *The American Journal of Pathology.* 2022; 192(2):308-319. doi:10.1016/j.ajpath.2021.10.014.

20. Baik J.E., Park H.J., Kataru R.P., Savetsky I.L., Ly C.L., Shin J., Mehrara B.J. TGF- β 1 mediates pathologic changes of secondary lymphedema by promoting fibrosis and inflammation. *Clinical and Translational Medicine.* 2022; 12(6):e758. doi:10.1002/ctm2.758.

21. Santerre K., Ghio S.C., Proulx S. TGF- β -mediated modulation of cell–cell interactions in postconfluent maturing corneal endothelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2022; 63(11):3-3. doi:10.1167/iovs.63.11.3.

22. Wilson S.E. Topical losartan: practical guidance for clinical trials in the prevention and treatment of corneal scarring fibrosis and other eye diseases and disorders. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics.* 2023; 39(3):191-206. doi:10.1089/jop.2022.0174.

23. Acosta A.C., Joud H., Sun M., Avila M.Y., Margo C.E., Espana E.M. Keratocyte-Derived Myofibroblasts: Functional Differences With Their Fibroblast Precursors. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2023; 64(13):9-9. doi:10.1167/iovs.64.13.9.

Authors

Alexey M. Bystrov

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital

Ophthalmologist of Ophthalmology Department No. 1

Chelyabinsk, Russian Federation

highvision@bk.ru

Evgeniya V. Davydova

South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

MD, Professor of the Department of Sports Medicine and Rehabilitation

Chelyabinsk, Russian Federation

davidova-ev.med@yandex.ru

Andrey A. Kuznetsov

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital

PhD, head of the Ophthalmological Center

Chelyabinsk, Russian Federation

cheloptic@mail.ru