

ПРОГНОСТИЧНА РОЛЬ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-8 І ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ- β 2 У РОЗВИТКУ ДИФУЗНОГО ЛАМЕЛЯРНОГО КЕРАТИТУ ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ МЕТОДАМИ LASIK І Femto-LASIK

Могілевський С.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-8744-3124>

Лисенко Н.Р. <https://orcid.org/0009-0004-1423-338X>

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика,
Київ, Україна

sergey.mogilevskyy@gmail.com

Актуальність. Після ексимерлазерної корекції зору (ЕЛК) за даними літератури у 4,3% - 37,5% випадків може розвинути дифузний ламелярний кератит (ДЛК), що модулюється співвідношенням прозапальні інтерлейкіни/ фактори росту.

Ціль: встановити прогностичну роль інтерлейкіну 8 (IL-8) і трансформуючого фактору росту β 2 (TGF- β 2) у розвитку ДЛК після ЕЛК міопії методами LASIK і Femto-LASIK.

Матеріали та методи. Проперовано 180 пацієнтів (360 очей) з міопією або міопією з міопічним астигматизмом. Пацієнтам 1-ої групи (182 ока) було виконано ЕЛК методом LASIK, пацієнтам 2-ої групи (178 очей) – методом Femto-LASIK. Всіх пацієнтів обстежували через 1 тиждень, 1 місяць, 1,5 і 2,5 року після проведення ЕЛК. В 1-й групі кількість випадків з ДЛК на всіх термінах спостереження склала 29 (15,9%), у 2-й групі – 37 (20,8%). У контрольну групу було залучено по 10 пацієнтів кожної групи, в яких ДЛК не розвивався на будь який з термінів спостереження. У слізній рідині визначали вміст TGF- β 2 і IL-8 методом імуноферментного аналізу.

Результати. У пацієнтів без ДЛК вміст у слізній рідині TGF- β 2 і IL-8 протягом спостереження суттєво не змінювався. У пацієнтів з ДЛК TGF- β 2 був суттєво збільшеним (у 2,3-3,4 рази у порівнянні з пацієнтами без ДЛК; $p < 0,05$) на всіх термінах, що було більш вираженим при застосуванні методики Femto-LASIK, ніж LASIK. Вміст IL-8 у пацієнтів з ДЛК був збільшеним (у 2,3-3,4 рази у порівнянні з пацієнтами без ДЛК; $p < 0,05$), але тільки на ранніх термінах (через 1 тиждень – у 3,1-3,2 рази в порівнянні з контролем; $p < 0,05$). Вміст IL-8 в групах LASIK і Femto-LASIK не відрізнявся. Через 1 тиждень, але не в інші терміни, відмічений сильний кореляційний зв'язок TGF- β 2 і IL-8 ($r = +0,73$; $p = 0,04$). Обидва маркери мали асоціацію з розвитком ДЛК (для TGF- β 2 $r = +0,84$, для IL-8 $r = +0,60$; $p < 0,001$). Розрахунок клінічних порогів Cut-Off розвитку ДЛК за Youden Index встановив межу для TGF- β 2 – 3237 пг/мл (чутливість і специфічність – 100%). Площа під ROC-кривою AUC=1,00 (95% BI 1,00-1,00), що свідчило про дуже сильний зв'язок вмісту TGF- β 2 з ДЛК і можливість його використання у якості біомаркера ДЛК на всіх термінах. Cut-Off для IL-8 склав 4,02 пг/мл, прогноз мав задовільні характеристики тільки на ранніх термінах.

Висновок. Таким чином нами вперше на українській популяції було встановлено вирішальне значення накопичення TGF- β 2 для розвитку ДЛК на різні терміни (від 1 тижня до 2,5 років) після ЕЛК методами LASIK і Femto-LASIK.

Ключові слова (MeSH): міопія; ексимерлазерна корекція; дифузний ламелярний кератит; інтерлейкін-8; трансформуючий фактор росту- β 2; біомаркери; прогноз.

Актуальність. Дифузний ламелярний кератит (ДЛК) являє собою одне з неінфекційних ускладнень ексимерлазерної корекції зору (ЕЛК) методом LASIK (Laser-Assisted in Situ Keratomileusis), яке характеризується запальними інфільтраціями під межею рогівкового клаптя [1]. Для нього характерне скупчення дрібних білих інфільтратів, що клінічно проявляється зернистим помутнінням рогівки [2]. Загальний рівень захворюваності на ДЛК становив 4,3% [3]. З впровадженням фемтосекундних лазерів (Femto-LASIK) з низькою або високою частотою енергії частота ДЛК наблизилася до показників LASIK. З іншого боку, за оглядом 2023 року ДЛК після Femto-LASIK траплявся частіше, ніж після LASIK (орієнтовні діапазони 0,4-37,5% проти 0,1-12,1%) [2].

За сучасними уявленнями пусковим сигналом розвитку ДЛК є ушкодження епітелію під час операції і вивільнення прозапальних цитокінів в строму рогівки [4]. Ці медіатори і, особливо інтерлейкін 8 (IL-8), рекрутують клітини крові (в першу чергу нейтрофіли і моноцити) з лімбальних судин, а з іншого боку, активують кератоцити/стромальні фібробласти, що у свою чергу індукує каскад прозапальних хемокінів і призводить до апоптозу або некрозу кератоцитів.

Таким чином, в стромі під клаптем формується «петля підсилення» – прозапальні інтерлейкіни з епітелію викликають апоптоз кератоцитів, підвищують продукцію хемокінів у фібробластах, що посилює інфільтрацію гранулоцитів і макрофагів у зону інтерфейсу [5]. При цьому осередок запалення формується саме у ламелярному інтерфейсі, де мігрують клітин, накопичуються медіатори запалення, а колагенові ламелі прилеглої строми та кератоцити створюють відносний бар'єр [4].

В літературі є дані, що окрім ендогенних цитокінопоередкованих механізмів запалення інтерфейсу, існують екзогенні причини – ендотоксини стерилізаторів, детергенти, олія з мікрокератому, часточки з інструментів, повідон-йод, тальк з рукавичок, маркери, фрагменти тканин та таке інше. Надмірна енергія лазерного імпульсу при використанні методики Femto-LASIK також

може спричиняти некроз кератоцитів та утворення газових мікропухирців, що підсилює запалення [6].

Крім прозапальних цитокінів можлива роль надходження з епітелію факторів росту і, в першу чергу, трансформуючого фактору росту β (TGF- β), що стимулює диференціацію з кератоцитів активованих міофібробластів [7]. Останні утворюють непрозорі білкові компоненти позаклітинного матриксу, які можуть зберігатися протягом місяців або років після пошкодження з розвитком фіброзу. Відновлення прозорості рогівки пов'язане із зниканням TGF- β та апоптозом міофібробластів з відновленням популяції кератоцитів, які реабсорбують порушений позаклітинний матрикс [7]. Таким чином, баланс запалення/фіброзу в стромі рогівки після ЕЛК міопії модулюється співвідношенням прозапальні інтерлейкіни/фактори росту.

Ціль: встановити прогностичну роль інтерлейкіну 8 (IL-8) і трансформуючого фактору росту $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$) у розвитку ДЛК після ЕЛК міопії методами LASIK і Femto-LASIK.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження було проспективним, когортним та неінтервенційним, по типу «випадок-контроль». Дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 року, з подальшими доповненнями), чинних нормативно-правових актів України та з дозволу комісії з питань біоетики Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (протокол №11 від 16.11.2021). Всі пацієнти, які були залучені в дослідження, дали інформовану згоду на участь.

Всі дослідження були проведені на клінічних базах кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика. Дослідження були проведені по зверненню пацієнтів, оперованих в різних

медичних центрах. Дослідження проводились протягом 2021 – 2024 років.

Під нашим спостереженням було 180 пацієнтів (360 очей) з міопією або міопією з міопічним астигматизмом. Міопія слабого ступеня була на 105 очах (29,2%), середнього – на 169 очах (46,9%) і високого – на 86 очах (23,9%), з яких міопія з астигматизмом до -3,0 дптр на 18 очах (5,0%). Жінок було 83 (46,1%), чоловіків – 97 (53,9%). Вік пацієнтів був від 18 до 45 років.

Пацієнтам 1-ої групи (182 ока) було виконано ЕЛК методом LASIK, пацієнтам 2-ої групи (178 очей) – методом Femto-LASIK. Всіх пацієнтів обстежували через 1 тиждень, 1 місяць, 1,5 і 2,5 року після проведення ЕЛК. В 1-й групі кількість випадків з ДЛК на всіх термінах спостереження склала 29, у 2-й групі – 37. У контрольну групу було залучено по 10 пацієнтів кожної групи, в яких ДЛК не розвивався на будь який з термінів спостереження.

У пацієнтів з ДЛК та контрольної групи через 1 тиждень, 1 місяць, 1,5 і 2,5 року після ЕЛК проводили збирання слізної рідини [8]. Для цього 60 мкл 0,9% фізіологічного розчину закапували в кон'юнктивальний мішечок, після чого отриману рідину збирали скляним капіляром та переносили у пластикову пробірку об'ємом 0,5 мл та заморожували при -70оС до проведення аналізів. Для контролю якості забору сльози перед проведенням аналізів проводили вимірювання вмісту білка (не менше 5 мг/мл).

Концентрацію TGF- β 2 і IL-8 у слізній рідині досліджували методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-систем “eBioscience” та “Bender Medsystems” (Австрія).

Усім пацієнтам проводили в динаміці візіометрію за допомогою проєктора тестових знаків. Також виконували рефрактометрію та кератометрію на авторефрактометрі. Оцінювали нескориговану гостроту зору вдаль (НКТЗ) та максимально кориговану гостроту зору вдаль (МКТЗ), а також визначали маніфестну рефракцію та рефракцію в умовах циклоплегії. Визначення гостроти зору, рефрактометрію та кератометрію проводили за допомогою автооптометричної

системи AOS-2100 (NIDEK, Японія) із використанням авторефрактометра ARK-1 (NIDEK, Японія). Показники рефракції були визначені без інстиляції циклоплегічних крапель за допомогою автоматичного фороптера Refractor RT-5100 (NIDEK, Японія). Вимірювання внутрішньоочного тиску (BOT) проводилось безконтактно-оптичним методом за допомогою автоматичного тонометра NT-510 («NIDEK», Japan) відповідно до стандартної методики. Кератометрію виконували за допомогою авторефрактометра NIDEK ARK-1 (Японія) з дослідженням кривизни передньої поверхні рогівки в двох основних напрямках: горизонтальному та вертикальному. Біомікроскопія переднього відрізка ока була здійснена за допомогою щілинної лампи SL-120 та SL-130 (Carl Zeiss, Німеччина), що дозволяє отримати високодеталізовані зображення переднього відрізка ока, включаючи рогівку, кришталик, склеру та кон'юнктиву. Ультразвукову пахіметрію та біометрію проводили за допомогою ультразвукового приладу NIDEK US-4000 (Японія), гоніоскопію виконували за допомогою спеціалізованих Goldmann goniolens або гемісферичних лінз для детального огляду кута передньої камери ока. Офтальмоскопію проводили за допомогою щілинної лампи SL-1800 (Японія) та SL-120 і SL-130 (Carl Zeiss, Німеччина). Оптичну когерентну томографію (ОКТ) проводили за допомогою апарату Copernicus REVO (Optopol-technology).

Для статистичної обробки дані описували як медіану та міжквартильний інтервал (Me; Q1–Q3). На кожному часовому етапі (1 тиждень, 1 місяць, 1,5 та 2,5 року) для кожного маркера (TGF- β 2, IL-8) оцінювали відмінності між трьома групами за допомогою Н-критерію Краскела–Уолліса з подальшими пост-хок порівняннями за критерієм Данна з поправкою Бонферроні (двосторонній $\alpha=0,05$). Зв'язок між біомаркерами та/або між маркером і клінічним результатом оцінювали за коефіцієнтом Спірмена з 95% довірчим інтервалом (ДІ). Інтерпретацію сили зв'язку наводили за клінічними рекомендаціями [9]. Дискримінаційну здатність маркерів

оцінювали за площею під ROC-кривою (AUC) з непараметричними ДІ та оптимальним порогом за Youden Index з інтерпретацією AUC як імовірності коректного ранжування «випадок > контроль» [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як показали наші попередні дослідження, частота ДЛК протягом спостереження у групах відрізнялася [11]. У 1-й групі через 1 тиждень після ЕЛК кількість випадків з ДЛК склала 9 (4,95%) очей, через 1 місяць – 6 очей (3,30%), через 1,5 роки – 1 (0,55%) око і через 2,5 роки – 13 (7,14%) очей. У 2-й групі через 1 тиждень кількість випадків з ДЛК склала 12 (6,74%) очей, через 1 місяць – 5 очей (2,81%), через 1,5 роки – 6 (3,37%) очей і через 2,5 роки – 14 (7,87%) очей. Всього у 1-й групі зафіксовано 15,9% випадків ДЛК, у 2-й групі – 20,8% ($p=0,235$ за критерієм ксі-квадрат Пірсона).

Вміст у слізній рідині TGF-β2 (пг/мл) за термінами спостереження

у групах пацієнтів (Me; QI – QIII) наведено у таблиці 1. Оскільки у 1-й групі через 1,5 роки ДЛК спостерігався тільки в одного пацієнта, розрахунки по цій точці даних не проводилися.

Результати визначення TGF-β2 у пацієнтів, які були прооперовані різними методами та не мали ДЛК на відповідний термін спостереження не відрізнялися та для порівняльного аналізу були об'єднані в одну групу – контроль.

Вміст TGF-β2 у контрольній групі суттєво не відрізнявся на різних термінах спостереження. У 1-й і 2-й групах на всіх термінах було відмічено збільшення його вмісту у 2,3-3,4 рази ($p<0,05$) у порівнянні з контролем. При цьому максимальний зріст у був притаманний 2-й групі через 1 місяць і 2,5 роки, коли вміст TGF-β2 значуще перевищував такий у 1-й групі (відповідно у 1,4 і 1,2 рази; $p<0,05$).

Таким чином, за умов розвитку ДЛК вміст TGF-β2 у слізній рідині був значуще збільшеним, що спостерігалось як на ранніх, так і на пізніх термінах після ЕЛК і більшою мірою проявлялося у 2-й групі. Розглядаючи TGF-β2 як маркер фіброзу, можна пояснити цим дещо більшу частоту ДЛК у 2-й групі.

Вміст у слізній рідині IL-8 (пг/мл) за термінами спостереження у групах пацієнтів (Me; QI – QIII) наведено у таблиці 2. На відміну від TGF-β2 вміст IL-8 було збільшено лише на ранніх термінах спостереження, коли запальні явища мали максимальне вираження.

Таблиця 1

Вміст у слізній рідині TGF-β2 (пг/мл) за термінами спостереження у групах пацієнтів (Me; QI – QIII)

Термін	Група			p
	Контроль	1-а	2-а	
1 тиждень	1973 (1945-2052)	4610* (4544-5115)	5101* (4807-5321)	<0,001
1 місяць	2071 (1967-2113)	5217* (4545-5264)	7076* ** (6774-7339)	<0,001
1,5 роки	2008 (1948-2103)	–	5143* (4364-5367)	0,003
2,5 роки	1981 (1879-2108)	4964* (4543-5155)	5972* ** (5743-6299)	<0,001

Примітки: порівняння проведено за критерієм Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння – за критерієм Данна (з поправкою Бонферроні):

* – відмінність від контрольної групи статистично значуща, $p<0,05$;

** – відмінність від 1-ї групи статистично значуща, $p<0,05$.

Таблиця 2

**Вміст у слізній рідині IL-8 (пг/мл) за термінами спостереження
у групах пацієнтів (Me; QI – QIII)**

Термін	Група			p
	Контроль	1-а	2-а	
1 тиждень	3,02 (2,82-3,09)	9,29* (7,78-9,58)	9,54* (9,00-10,45)	<0,001
1 місяць	3,11 (2,55-3,22)	5,86* (5,27-6,03)	6,55* (6,12-6,99)	0,001
1,5 роки	2,73 (2,67-2,99)	–	3,66* (3,42-4,02)	0,009
2,5 роки	3,02 (2,66-3,44)	3,26 (2,70-3,57)	3,59 (2,98-4,21)	0,205

Примітки: порівняння проведено за критерієм Крускала-Уолліса, постеріорні порівняння – за критерієм Данна (з поправкою Бонферроні):

* – відмінність від контрольної групи статистично значуща, $p < 0,05$;

** – відмінність від 1-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$

Максимальний приріст IL-8 був відмічений у обох групах через 1 тиждень (у 3,1-3,2 раза в порівнянні з контролем; $p < 0,05$). Через 1 місяць приріст був менш вираженим (у 1,9-2,1 раза; $p < 0,05$). На пізніх термінах через 1,5 роки у 2-й групі було відмічено збільшення вмісту IL-8 у 1,3 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$), а через 2,5 роки відповіді IL-8 на розвиток ДЛК в обох групах не реєструвалося – його вміст не відрізнявся від контрольного ($p = 0,205$).

Таким чином, відповідь прозапального маркера IL-8 при розвитку ДЛК спостерігалася тільки на ранніх термінах, на пізніх його зв'язок з розвитком цього ускладнення ЕЛК втрачався.

На рис.1 представлено діаграму вмісту у слізній рідині TGF- β 2 і IL-8 у 1-й (а) і 2-й (б) групах (відношення до контрольної групи, %). Як видно на діаграмі, відносний приріст на ранніх термінах був більше вираженим для IL-8, ніж для TGF- β 2. При цьому суттєвої різниці між 1-ю і 2-ю групами виявлено не було. На пізніх термінах сигнал IL-8 стухав, тоді як TGF- β 2 лишався на високому рівні.

Спільний механізм активації обох факторів на ранніх термінах підтвердив проведений кореляційний аналіз Спірмена. Сильний зв'язок TGF- β 2 і IL-8 через 1 тиждень

становив $r = +0,73$ ($p = 0,04$). На інших термінах корелятивного зв'язку між ними виявлено не було.

Також обидва маркери мали асоціацію з розвитком ДЛК: TGF- β 2 показав дуже сильний зв'язок $r = +0,84$ ($p < 0,001$), IL-8 – зв'язок середньої сили $r = +0,60$ ($p < 0,001$). При стратифікації за термінами для TGF- β 2 зв'язок зберігався у всіх випадках (r від $+0,76$ до $+0,87$), а для IL-8 втрачався через 2,5 роки ($r = +0,22$; $p = 0,209$). Це підтверджувало прогностичне значення обох маркерів, особливо TGF- β 2 для розвитку ДЛК.

Розрахунок клінічних порогів Cut-Off розвитку ДЛК за Youden Index показало такі межі: для TGF- β 2 – 3237 пг/мл (чутливість і специфічність – 100%), для IL-8 – 4,02 пг/мл (чутливість – 100%, специфічність – 63,8%).

ROC-крива характеристик моделі прогнозу ДЛК за вмістом у слізній рідині TGF- β 2 і IL-8 представлена на рис.2. Площа під ROC-кривою для TGF- β 2 AUC=1,00 (95% ВІ 1,00-1,00), що свідчило про дуже сильний зв'язок вмісту TGF- β 2 з ДЛК. Площа під ROC-кривою для IL-8 AUC=0,853 (95% ВІ 0,58-0,90). Комбінований індекс прогнозу, розрахований за обома показниками, показав, що AUC дорівнювала 1,00, як і для прогнозу по TGF- β 2.

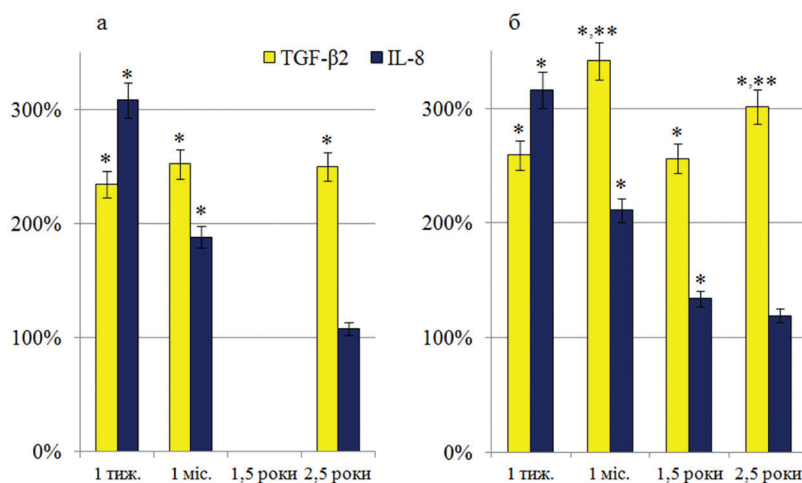


Рис. 1. Діаграма вмісту у слізній рідині TGF- $\beta 2$ і IL-8 у 1-й (а) і 2-й (б) групах (відношення до контрольної групи, %). * – відмінність від контрольної групи статистично значуща, $p < 0,05$; ** – відмінність від 1-ї групи статистично значуща, $p < 0,05$.

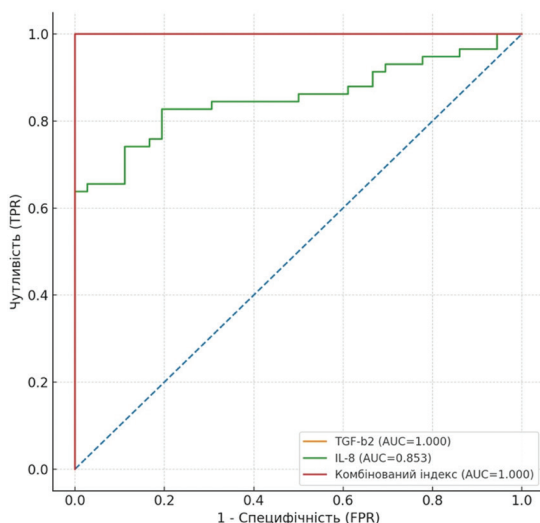


Рис. 2. ROC-крива характеристик моделі прогнозу ДЛК за вмістом у слізній рідині TGF- $\beta 2$ і IL-8. Sensitivity – чутливість отриманої моделі; Specificity – специфічність отриманої моделі; AUC — Area under the ROC curve (площа під ROC-кривою)

Ідеальні показники прогнозу ймовірно свідчили про перенавчання/апаратну оцінку на невеликій вибірці, що можна розглядати як обмеження даного дослідження. Для збільшення надійності результатів проведена крос-валідація ($k=5$). Отриманий поріг вмісту TGF- $\beta 2$ мав 100% точність прогнозу ДЛК: менше 3237 пг/мл – низький ризик (0%), більше 3237 пг/мл – високий ризик (100%).

ОБГОВОРЕННЯ

Таким чином, в результаті проведеного нами дослідження, було встановлено вирішальне значення накопичення TGF- $\beta 2$ для розвитку ДЛК на різних термінах після ЕЛК. Ці дані узгоджувалися з теоретичним розумінням ролі цього фактора в розвитку фіброзу рогівки після рефракційної хірургії [7, 12]. Фіброз рогівки пов'язаний з пошкодженням та порушенням

регенерації прилеглої епітеліальної базальної мембрани, яка контролює проходження TGF- β від епітелію в строму, що призводить до розвитку та персистенції міофібробластів [7].

За сучасними уявленнями, ДЛК виникає на ранніх або пізніх стадіях після будь-якої хірургічної процедури в рогівці та найчастіше провокується епітеліально-стромально-кістково-мозковими клітинними взаємодіями, опосередкованими цитокінами та хемокінами [4]. Після виконання ЕЛК, пошкоджений епітелій рогівки дуже швидко починає виділяти прозапальні цитокіни (IL-1 α , IL-1 β , IL-8, TNF- α), які через пошкоджену базальну мембрану проникають у стромальні шари і рекрутують імунні клітини (моноцити, макрофаги, гранулоцити, лімфоцити) у прооперовану область – зону інтерфейсу [13]. Ці клітини через активацію шляху TGF- β активують трансформацію кератоцитів у фібробласти і далі – у міофібробласти, які додатково продукують багато інших хемокінів і цитокінів, що ще більше посилює запалення [4].

Методом мас-спектрометрії було показано збільшення значної кількості прозапальних білків у сльозі після Femto-LASIK [14, 15]. Експресія більшості з цих білків відновилася до доопераційного рівня протягом першого місяця. Не повернулися до вихідного рівня білки, пов'язані з функцією епітеліального бар'єра (мембранні муцини MUC4 та MUC16) [15]. Останнє вказує на можливу тривалу підтримку (персистенцію) пошкодження епітелію і обумовлює розвиток ДЛК на пізніх термінах.

Маркером гострої запальної відповіді є IL-8, який серед всіх інтерлейкінів відповідає за нейтрофільну інфільтрацію у інтерфейс і пов'язане з цим запалення [16]. Вищі рівні IL-8 у сльозі після рефракційної хірургії рогівки були пов'язані з дегенеративним склерозом рогівки [17]. Ці дані узгоджувалися з встановленим нами міцним зв'язком розвитку ДЛК з вмістом IL-8 на ранніх термінах після ЕЛК. Також наші результати по зниженню рівню IL-8 у пізні терміни збігалися з даними щодо відновлення рівнів IL-1 β та IL-8 у сльозі через місяць

спостереження після застосування Femto-LASIK [18].

Таким чином, ранній ДЛК розвивається по типу класичного гострого запалення, що триває до 1 місяця після ЕЛК. Нами доведена прогностична роль TGF- β 2 і IL-8 у цей період як високочутливих біомаркерів ДЛК.

Розвиток пізнього ДЛК спостерігається у 1–3% пацієнтів протягом досить тривалого часу (від місяців до років) після операції [3]. Наше дослідження показало інший механізм розвитку цього ускладнення, який ймовірно не був пов'язаним із сигналом прозапальних інтерлейкінів, але реалізувався через фібротичні механізми, що спричинялися TGF- β 2.

Численні дослідження показали, що у зоні інтерфейсу під епітеліальним клаптом тривалий час залишаються «сплячі» запальні клітини та змінені кератоцити [4, 5, 7, 13]. При додаткових тригерах (вірусна інфекція, у тому числі COVID-19, вакцинація, алергічна реакція, системне автоімунне загострення, тощо) може відбутися повторна активація цитокінового каскаду, що на фоні спровокованого інтерфейсу призведе до розвитку відстроченого поверхневого запалення (delayed-onset interface inflammation) [19–22]. Крім неінфекційного епітеліально-стромального запалення до зміни фенотипу кератоцитів можуть призводити інфекційні чинники, найчастіше гриби *C. albicans* [23].

За умов неінфекційного запалення у ділянці рогівкового клаптя формується зона зниженої іннервації та зміненого метаболізму, що сприяє повільній активації кератоцитів, секреції матричних металопротеїнази (ММР-9), змін у глікозаміногліканах строми, нейтрофільній інфільтрації. Вочевидь, ці явища у будь який час можуть спровокувати диференціацію кератоцитів у міофібробласті з утворенням непрозорих білків та розвитком ДЛК. Високочутливим маркером цього процесу на пізніх термінах, як показали наші дослідження, може вважатися зростання вмісту TGF- β 2 у слізній рідині вище за 3237 пг/мл.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів з міопією та міопічним астигматизмом, після ЕЛК, які не мали ДЛК вміст у слізній рідині TGF- $\beta 2$ протягом спостереження (1 тиждень, 1 місяць, 1,5 і 2,5 роки) суттєво не змінювався. У пацієнтів з ДЛК він був суттєво збільшеним (у 2,3-3,4 рази у порівнянні з пацієнтами без ДЛК; $p < 0,05$) на всіх термінах, що було більш вираженим при застосуванні методики Femto-LASIK, ніж LASIK.
2. У пацієнтів після ЕЛК, які не мали ДЛК вміст у слізній рідині IL-8 в різні терміни спостереження також не відрізнявся. У пацієнтів з ДЛК він був збільшеним (у 2,3-3,4 рази у порівнянні з пацієнтами без ДЛК; $p < 0,05$) тільки на ранніх термінах (через 1 тиждень – у 3,1-3,2 рази в порівнянні з контролем; $p < 0,05$). Вміст IL-8 в групах із застосуванням методів LASIK і Femto-LASIK не відрізнявся.
3. Відмічено сильний зв'язок TGF- $\beta 2$ і IL-8 через 1 тиждень ($r = +0,73$; $p = 0,04$). Обидва маркери мали асоціацію з розвитком ДЛК (для TGF- $\beta 2$ $r = +0,84$, для IL-8 $r = +0,60$; $p < 0,001$). При стратифікації за термінами для TGF- $\beta 2$ зв'язок зберігався у всіх випадках (r від $+0,76$ до $+0,87$), а для IL-8 втрачався через 2,5 роки ($r = +0,22$; $p = 0,209$).
4. Розрахунок клінічних порогів Cut-Off розвитку ДЛК за Youden Index встановив межу для TGF- $\beta 2$ – 3237 пг/мл (чутливість і специфічність – 100%). Площа під ROC-кривою AUC=1,00 (95% ВІ 1,00-1,00), що свідчило про дуже сильний зв'язок вмісту TGF- $\beta 2$ з ДЛК і можливість його використання у якості біомаркера ДЛК після ексимерлазерної корекції.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

Джерела фінансування. Проведення дослідження не отримувало цільового фінансування з боку державних, комерційних або некомерційних організацій.

REFERENCES

1. Sahay P, Bafna RK, Reddy JC, Vajpayee RB, Sharma N. Complications of laser-assisted in situ keratomileusis. *Indian J Ophthalmol.* 2021 Jul;69(7):1658-1669. doi: 10.4103/ijo.IJO_1872_20.
2. Soltani Shahgoli S, Cheraqpour K, Soleimani M, Atighehchian M, Tabatabaei SA, Sargolzaeimoghaddam M, Sargolzaeimoghaddam M, Djalilian AR. Post-laser refractive surgery keratitis: A concise narrative review. *J Int Med Res.* 2023 Oct;51(10):3000605231206054. doi: 10.1177/03000605231206054.
3. Moshirfar M, Durnford KM, Lewis AL, Miller CM, West DG, Sperry RA, West WB Jr, Shmunis KM, McCabe SE, Hall MN, Ronquillo YC, Hoopes PC. Five-Year Incidence, Management, and Visual Outcomes of Diffuse Lamellar Keratitis after Femtosecond-Assisted LASIK. *J Clin Med.* 2021 Jul 11;10(14):3067. doi: 10.3390/jcm10143067.
4. Wilson SE, de Oliveira RC. Pathophysiology and Treatment of Diffuse Lamellar Keratitis. *J Refract Surg.* 2020;36(2):124-130. doi:10.3928/1081597X-20200114-01.
5. Kamil S, Mohan RR. Corneal stromal wound healing: Major regulators and therapeutic targets. *Ocul Surf.* 2021 Jan;19:290-306. doi: 10.1016/j.jtos.2020.10.006.
6. Leccisotti A, Fields SV. Diffuse lamellar keratitis after LASIK with low-energy femtosecond laser. *J Cataract Refract Surg.* 2021 Feb 1;47(2):233-237. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000413.
7. Torricelli AA, Santhanam A, Wu J, Singh V, Wilson SE. The corneal fibrosis response to epithelial-stromal injury. *Exp Eye Res.* 2016 Jan;142:110-8. doi: 10.1016/j.exer.2014.09.012.
8. Bachhuber F, Huss A, Senel M, Tumani H. Diagnostic biomarkers in tear fluid: from sampling to preanalytical processing. *Scientific reports.* 2021;11(1):10064. doi: 10.1038/s41598-021-89514-8.
9. Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesth Analg.* 2018;126(5):1763-1768. doi:10.1213/ANE.0000000000002864.

10. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013 Spring;4(2):627-35. PMID: 24009950; PMCID: PMC3755824.
11. Lysenko NR. Features of development and progression of DLK after different types of excimer laser myopia correction: long-term observation. *Archive of Ukrainian Ophthalmology*. 2024;12(3):193-198. [Ukrainian] <https://doi.org/10.22141/2309-8147.12.3.2024.387>
12. Wilson SE, Dutra BAL, Wahabi K. Topical Losartan in the Treatment of Stromal Scarring After Refractive Surgery. *J Refract Surg*. 2025 Jun;41(6):e602-e610. doi: 10.3928/1081597X-20250506-05.
13. Leonardi A, Tavolato M, Curnow SJ, Fregona IA, Violato D, Alió JL. Cytokine and chemokine levels in tears and in corneal fibroblast cultures before and after excimer laser treatment. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Feb;35(2):240-7. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.10.030.
14. Mäkinen P, Nättinen J, Aapola U, Pietilä J, Uusitalo H. Comparison of early changes in tear film protein profiles after small incision lenticule extraction (SMILE) and femtosecond LASIK (FS-LASIK) surgery. *Clin Proteomics*. 2024 Feb 17;21(1):11. doi: 10.1186/s12014-024-09460-1.
15. Nättinen J, Mäkinen P, Aapola U, Orsila L, Pietilä J, Uusitalo H. Early changes in tear film protein profiles after femtosecond LASIK surgery. *Clin Proteomics*. 2020 Oct 19;17:36. doi: 10.1186/s12014-020-09303-9.
16. Resan M, Cvejic Z, Pancevski I, Thumann G, Kropp M, Guber I, Ristic D, Vojvodic D, Pajic B. Interleukin 12 in the Acute Phase of the Immune Response after Excimer Laser Treatment. *J Clin Med*. 2023 Jul 4;12(13):4472. doi: 10.3390/jcm12134472.
17. Blanco-Vázquez M, Vázquez A, Fernández I, Novo-Diez A, Martínez-Plaza E, García-Vázquez C, González-García MJ, Sobas EM, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A. Inflammation-related molecules in tears of patients with chronic ocular pain and dry eye disease. *Exp Eye Res*. 2022 Jun;219:109057. doi: 10.1016/j.exer.2022.109057.
18. Tsai T, Alwees M, Rost A, Theile J, Dick HB, Joachim SC, Taneri S. Changes of Subjective Symptoms and Tear Film Biomarkers following Femto-LASIK. *Int J Mol Sci*. 2022 Jul 6;23(14):7512. doi: 10.3390/ijms23147512.
19. Grassmeyer JJ, Goertz JG, Baartman BJ. Diffuse Lamellar Keratitis in a Patient Undergoing Collagen Corneal Cross-Linking 18 Years After Laser In Situ Keratomileusis Surgery. *Cornea*. 2021 Jul 1;40(7):917-920. doi: 10.1097/ICO.0000000000002653.
20. Shetty A, Leal S, Mulpuri L, Tonk R. Late-onset Diffuse Lamellar Keratitis in the Context of Conjunctivitis Related to COVID-19: Case Report. *Journal of Refractive Surgery Case Reports*. 2024;4(1):e11-e14. <https://doi.org/10.3928/jrscr-20240102-01>.
21. Shah SG, Shah GY. Recurrent late onset diffuse lamellar keratitis. *Indian J Ophthalmol*. 2020 Dec;68(12):3033-3034. doi: 10.4103/ijo.IJO_1551_20. PMID: 33229694; PMCID: PMC7856958.
22. Fu G, Pan J, Yu H, Yang W, Wu Z. Delayed-onset diffuse lamellar keratitis due to retained SMILE lenticule: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2025 Apr 18;104(16):e42095. doi: 10.1097/MD.00000000000042095.
23. Gao Y, Li C, Bu P, Zhang L, Bouchard CS. Infectious interface keratitis (IIK) following lamellar keratoplasty: A literature review. *Ocul Surf*. 2019 Oct;17(4):635-643. doi: 10.1016/j.jtos.2019.08.001.

THE PROGNOSTIC ROLE OF INTERLEUKIN 8 AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR- $\beta 2$ IN THE DEVELOPMENT OF DIFFUSE LAMELLAR KERATITIS AFTER EXCIMER LASER VISION CORRECTION USING LASIK AND Femto-LASIK METHODS

Mogilevskyy S.Yu., Lysenko N.R.

Shupyk National University of Health Care of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Background. According to the literature, diffuse lamellar keratitis (DLK) develops in 4.3–37.5% of cases following excimer laser correction (ELC), with its pathogenesis modulated by the balance between proinflammatory interleukins and growth factors.

Aim: to establish the prognostic role of interleukin-8 (IL-8) and transforming growth factor- $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$) in the development of DLK after ELC using LASIK and Femto-LASIK methods.

Materials and methods. 180 patients (360 eyes) with myopia or myopia with myopic astigmatism were operated on. Patients in group 1 (182 eyes) underwent LASIK ELC, patients in group 2 (178 eyes) – Femto-LASIK. All patients were examined 1 week, 1 month, 1.5 and 2.5 years after ELC. In group 1, the number of cases with DLC at all observation periods was 29 (15.9%), in group 2 – 37 (20.8%). The control group included 10 patients from each group who did not develop DLC at any of the observation periods. The content of TGF- $\beta 2$ and IL-8 in the tear fluid was determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. In patients without DLC, the content of TGF- $\beta 2$ and IL-8 in the tear fluid did not change significantly during the observation period. In patients with DLC, TGF- $\beta 2$ was significantly increased (2.3–3.4 times compared to patients without DLC; $p < 0.05$) at all time points, which was more pronounced when using the Femto-LASIK technique than LASIK. The content of IL-8 in patients with DLC was increased (2.3–3.4 times compared to patients without DLC; $p < 0.05$), but only at early times (after 1 week – 3.1–3.2 times compared to control; $p < 0.05$). The content of IL-8 in the LASIK and Femto-LASIK groups did not differ. After 1 week, but not at other times, a strong correlation between TGF- $\beta 2$ and IL-8 was noted ($r = +0.73$; $p = 0.04$). Both markers were associated with the development of DLC (for TGF- $\beta 2$ $r = +0.84$, for IL-8 $r = +0.60$; $p < 0.001$). Calculation of clinical Cut-Off thresholds for DLC development according to the Youden Index established a limit for TGF- $\beta 2$ – 3237 pg/ml (sensitivity and specificity – 100%). The area under the ROC curve AUC=1.00 (95% CI 1.00–1.00), which indicated a very strong relationship between TGF- $\beta 2$ content and DLC and the possibility of its use as a biomarker of DLC at all terms. Cut-Off for IL-8 was 4.02 pg/ml, the prognosis had satisfactory characteristics only at early terms.

Conclusion. Thus, for the first time in the Ukrainian population, we have established the crucial importance of TGF- $\beta 2$ accumulation for the development of DLC at different times (from 1 week to 2.5 years) after ELC by LASIK and Femto-LASIK methods.

Key words: myopia; excimer laser correction; diffuse lamellar keratitis; interleukin-8; transforming growth factor- $\beta 2$; biomarkers; prognosis.