

Відносний рівень експресії маркера активації нейтрофілів в периферичній крові пацієнтів з хворобою сухого ока при цукровому діабеті 2 типу

Т. М. Жмудь¹, канд. мед. наук, Л. М. Величко², д-р мед. наук;

Г. І. Дрожжина², д-р мед. наук, професор; О. В. Богданова², канд. мед. наук

¹ Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Вінниця (Україна)

² ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України»
Одеса (Україна)

E-mail: gtatyana@email.ua

Ключові слова:

хвороба сухого ока, цукровий діабет 2 тип, маркер активації нейтрофілів

Вступ. Серед хворих з цукровим діабетом одним із найбільш поширених і відразу відчутних патологічних станів переднього відділу очного яблука є хвороба «сухого ока» (ХСО). Згідно даних літератури і за результатами наших попередніх досліджень, прояви ХСО спостерігаються у 60-70% хворих з ЦД 2 типу. Враховуючи, що немалу роль в розвитку і прогресуванні як ЦД, так і хвороби сухого ока відіграє запалення, то було б доцільним вивчити саме роль нейтрофілів в цьому процесі.

Мета: вивчити рівень експресії маркера активації нейтрофілів (CD15) у хворих з хворобою сухого ока при цукровому діабеті 2 типу.

Матеріал і методи. В дослідження було включено 46 пацієнтів (92 ока) з хворобою сухого ока при цукровому діабеті 2 типу віком $54 \pm 8,0$ років, чоловіків – 19 (40 %), жінок – 27 (60 %). Стаж діабету становив в середньому $8,8 \pm 6,6$ років. Цукровий діабет був компенсований.

Всім пацієнтам були проведені загальноофтальмологічні та спеціальні дослідження – визначення загальної слюзопродукції проба (Ширмера I), часу розриву слізної плівки (проба Норна), тест з флюоресцеїном (оцінка по Оксфордській шкалі), оцінка ступеня важкості сухого ока згідно DEWS II, а також оцінка суб'єктивного дискомфорту (стандартні опитувальники OSDI). Визначався також в крові маркер активації нейтрофілів (CD15) гістоімуноцитохімічним методом.

Результати. При аналізі результатів було встановлено, що рівень експресії маркера активації нейтрофілів (МАН) у 14 пацієнтів, які мали пошкодження рогівки по типу кератопатії складав в середньому 46,7%, а у пацієнтів (32) з інтактною рогівкою – 28,5% ($p=0,0001$). При дослідженні рівня експресії МАН з пробю Ширмера і пробю Норна виявлений слабкий негативний кореляційний зв'язок ($p<0,05$). Коефіцієнт кореляції МАН з пробю Ширмера складає $r=-0,32$ ($p=0,032$) і з пробю Норна - $r=-0,34$ ($p=0,019$).

Актуальність. При швидкому збільшенні поширеності цукрового діабету 2 типу (ЦД2) очні ускладнення діабету (тобто хвороба сухого ока, діабетична кератопатія (ДК), діабетична катаракта, та діабетична ретинопатія (ДР)) можуть призвести до серйозних порушень зору та сліпоти [2, 3].

Серед хворих з ЦД2 одним із найбільш поширених патологічних станів переднього відділу очного яблука є хвороба «сухого ока» (ХСО). Згідно даних літератури і за результатами наших попередніх досліджень, прояви ХСО спостерігаються у 54-70 % хворих з ЦД 2 [1, 23].

Вважають, що ключовим фактором розвитку ДК є постійна гіперглікемія, яка викликає експресію різних цитокінів, хемокинів, молекул клітинної адгезії та інших проапоптотичних генів [4].

На сьогодні відомо, що одну із ключових ролей в розвитку хвороби сухого ока (ХСО) відіграє запаль-

ний компонент [5], але роль нейтрофілів у патогенезі ХСО в значній мірі не визначено. Існує також багато патогномонічних ознак наявності нейтрофілів у слюзі в осіб із хворобою сухого ока або іншими запальними захворюваннями поверхні ока, наприклад, підвищена активність матричних металопротеїназ [6, 7], нейтрофільної еластази [7], мієлопероксидази, [6, 7] та нейтрофільної позаклітинної пастки (NETs – Neutrophil Extracellular Traps) [6, 8, 12].

При хворобі сухого ока важкого ступеня або стадіях, пов'язаних із сухістю очей, наслідки для залучення нейтрофілів були набагато сильнішими. Є дані про те, що при тяжкому перебігу ХСО позаклітинні пастки нейтрофілів (NETs) відіграють певну роль у патогенезі

захворювання [11, 12] і лікарські засоби, орієнтовані на ці NET, можуть бути корисними для цих пацієнтів.

В даний час накопичено достатньо як експериментального, так і клінічного матеріалу, що дозволяє розглядати активацію нейтрофілів в якості реакції, що призводить при ряді умов до неконтрольованої цитотоксичності і деструкції тканин при запаленні. Але механізми залишаються до кінця не з'ясованими. Як відомо, що на поверхні імункомпетентних клітин, в тому числі і нейтрофілів, розташована велика кількість білків, і саме ідентифікація цих білків дає змогу оцінити їх функціональний стан. Ці білки мають назву CD-маркери, що служать рецепторами, які беруть участь у взаємодії клітин між собою і є компонентами каскаду визначених сигнальних шляхів. На сьогодні відомо понад 350 маркерів, частина з них добре вивчена, але є і такі, які потребують більш детального вивчення для розуміння патологічних процесів, в тому числі і тих, що відбуваються при цукровому діабеті. В дослідженні Курильців Н. Б., Зборовської О. В., Величко Л. М. (2021) було вивчено рівень експресії маркера активації нейтрофілів CD15 та маркера апоптозу CD95 у хворих з середнім увєтом і було припущено, що нейтрофіли можуть бути відповідальні за пошкодження тканин [24].

Враховуючи, що немалу роль в розвитку і прогресуванні як ЦД2, так і хвороби сухого ока відіграє запалення, то доцільним є вивчення саме ролі нейтрофілів в цьому процесі.

Мета – оцінити відносний рівень експресії маркера активації нейтрофілів (CD15) в периферичній крові пацієнтів з хворобою сухого ока при цукровому діабеті 2 типу.

Матеріал і методи

В дослідження було включено 46 пацієнтів (92 ока) з цукровим діабетом 2 типу (ЦД2), які мали ХСО, середнім віком $54,0 \pm 8,0$ років, серед них чоловіків було 19 (40 %), жінок – 27 (60 %). Стаж ЦД2 становив в середньому $8,0 \pm 6,6$ років. У всіх пацієнтів цукровий діабет був компенсований. Рівень глюкози у всіх пацієнтів складав в середньому $7,2 \pm 0,8$ ммоль/л.

Всім пацієнтам були проведені загальноофтальмологічні та спеціальні дослідження: визначення загальної сльозопродукції (проба Ширмера I), часу розриву слізної плівки (проба Норна), тест з флуоресцеїном (оцінка по Оксфордській шкалі), оцінка ступеня важкості сухого ока згідно DEWSII, а також суб'єктивного дискомфорту (стандартні опитувальники OSDI) [25, 26].

Проведені дослідження цілком відповідали основним біоетичним нормам Гельсінкської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), а також відповідним положенням ВООЗ та МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р.

В залежності від стану рогівки пацієнти з цукровим діабетом 2 типу були поділені на дві групи: 1 – па-

цієнти з хворобою сухого ока з пошкодженням рогівки у вигляді точкової кератопатії (14 пацієнтів), 2 – пацієнти з хворобою сухого ока, в яких рогівка була інтактною (32 пацієнта).

Ступінь пошкодження очної поверхні за Оксфордською шкалою серед пацієнтів першої групи був переважно 1-2 ступеня, а у пацієнтів другої групи ступінь пошкодження був 0 [25].

Визначення ступеня важкості ХСО оцінювали за шкалою DEWSII. Було встановлено, що у пацієнтів першої групи переважно спостерігався помірний ступінь важкості сухого ока (2 ступінь), а пацієнти другої групи мали легкий – 1 ступінь важкості [26].

Згідно даних опитувальників OSDI легкий ступінь ХСО спостерігався у пацієнтів другої групи, які мали ЦД2 і хворобу сухого ока без пошкодження рогівки, тоді як середній ступінь переважав у пацієнтів першої групи, які мали і цукровий діабет 2 типу, і пошкодження рогівки у вигляді точкової кератопатії [25].

Вивчення експресії молекулярного маркера активації нейтрофілів (МАН) CD15 проводилося імуноцитохімічним ПАП-методом з використанням моноклональних антитіл [18] у 46 пацієнтів з синдромом сухого ока та ЦД2 та 26 осіб контрольної групи. CD15 – маркер активації нейтрофілів, який експресується на активованих гранулоцитах, моноцитах, нормальних та лейкоїчних клітинах мієломоноцитарного ряду.

В процесі імунологічного дослідження отримували очищену клітинну суспензію нейтрофілів, до якої додавали моноклональні антитіла, специфічні до CD15. Підрахунок результатів проводили методом мікроскопії у 100 вільних нейтрофілах. Клітини, у яких виявляється молекулярний маркер CD15, мають по краю цитоплазми темний ободок, коричневого кольору [18].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакета прикладних програм Statistica 8.0. Для визначення відмінності числових показників вираховували середнє арифметичне значення (М) і помилку середнього арифметичного (m) або стандартне відхилення (SD) з використанням t-критерію Стюдента для залежних та незалежних вибірок з попереднім визначенням нормальності розподілу за критерієм Колмогорова – Смирнова. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції (r) за Спірменом.

Результати

Розподіл значень експресії маркера активації нейтрофілів у пацієнтів з ХСО та ЦД2 показав, що 39 % значень знаходяться в діапазоні від 10 до 30, а також наявний другий максимум від 40 до 50 також у 39% пацієнтів (рис.1, табл. 1).

При аналізі результатів було встановлено, що відносний рівень експресії маркера активації нейтрофілів (CD15) в периферичній крові у пацієнтів з ЦД2, які мали пошкодження рогівки у вигляді точкової кератопатії, складав в середньому 46,7 %, а для пацієнтів, в

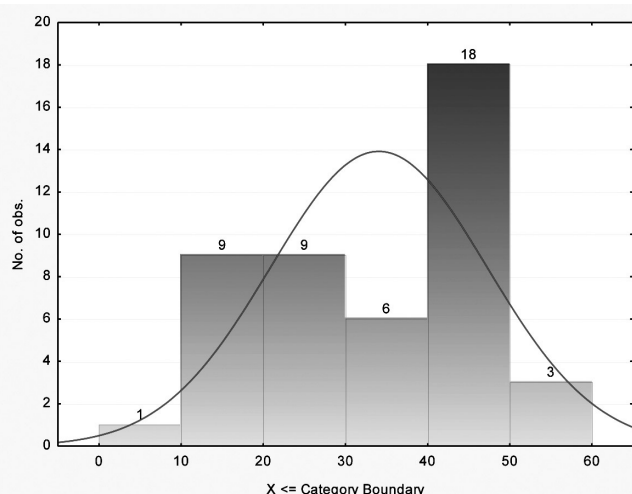


Рис. 1. Розподіл значень експресії маркера активації нейтрофілів в периферичній крові пацієнтів з ХСО та ЦД2. Вісь «х» – це значення експресії маркера активації нейтрофілів CD15 в периферичній крові пацієнтів з ХСО та ЦД2; вісь «у» – число пацієнтів.

яких рогівка була інтактною, середній показник МАН був статистично нижчим – 28,5 %. В контрольній групі цей показник становив $12,0 \pm 4,0$ % ($p=0,0001$) (табл. 2).

Значення проби Ширмера та проби Норна при хворобі сухого ока з точковою кератопатією та без неї у хворих на ЦД2 представлені в таблиці 3.

Як видно з даних, представлених в таблиці 3, у всіх досліджуваних спостерігалось зниження слюзопродукції, яке складало у пацієнтів з ураженням рогівки

Таблиця 1. Відносний рівень експресії маркера активації нейтрофілів в периферичній крові пацієнтів з ХСО та ЦД2

	n	M	p	Median	Min	Max	SD
Маркер активності нейтрофілів, CD15, %	46	34,1	1,00	38,5	10,0	56,0	13,2

Примітка: n – кількість хворих; p – рівень значущості відмінностей показника; M – середнє значення; Median – медіана; Min – мінімальне значення; Max – максимальне значення; SD – стандартне відхилення.

(точкова кератопатія) в середньому $5,6 \pm 3,7$ мм/5хв, тоді як у пацієнтів з інтактною рогівкою цей показник був статистично вищим і становив в середньому $9,5 \pm 2,8$ мм/5хв ($p=0,0004$).

Стабільність слізної плівки (проба Норна) у пацієнтів з наявністю точкової кератопатії в середньому становила $7,2 \pm 2,5$ с, а в пацієнтів з інтактною рогівкою була вище – в середньому $8,9 \pm 2,3$ с ($p=0,0297$) (табл.2).

При дослідженні зв'язку між відносним рівнем експресії МАН з пробю Ширмера і пробю Норна виявлений статично достовірний негативний кореляційний зв'язок ($p<0,05$). Коефіцієнт кореляції МАН (CD15) з пробю Ширмера складає $r = -0,32$ ($p=0,032$) і з пробю Норна – $r = -0,34$ ($p=0,019$).

У всіх пацієнтів (100%) показник OSDI був вищим ніж 15, що вказує на наявність симптомів сухості очей. Причому легкий ступінь ХСО спостерігався у пацієнтів другої групи, які мали ЦД 2 і ХСО без пошкоджен-

Таблиця 2. Відносний рівень експресії МАН (CD15) у периферичній крові пацієнтів на ЦД2 при хворобі сухого ока з точковою кератопатією та без неї

Показник	Контрольна група, n=26 1	Наявна кератопатія, n=14 2	Відсутня кератопатія, n=32 3	t	p1-2	p1-3	p2-3
Маркер активації нейтрофілів CD15, %	$12,0 \pm 4,0$	$46,7 \pm 4,25$	$28,5 \pm 11,9$	5,55	0,0000	0,0000	0,0001

Примітка: n – кількість хворих; p_{1-2} – рівень значущості відмінностей показника між контрольною групою та групою з ЦД2 та наявною кератопатією; p_{1-3} – рівень значущості відмінностей показника між контрольною групою та групою з ЦД2 та відсутньою кератопатією; p_{2-3} – рівень значущості відмінностей показника між групою з ЦД2 і наявною кератопатією та групою з ЦД2 і відсутньою кератопатією; t – коефіцієнт Стюдента.

Таблиця 3. Значення проби Ширмера ($M \pm SD$) та проби Норна ($M \pm SD$) при хворобі сухого ока з точковою кератопатією та без неї у хворих на ЦД2

	Наявна кератопатія, n=14	Відсутня кератопатія, n=32	t	P
Проба Ширмера, мм/5хв	$5,6 \pm 3,7$	$9,5 \pm 2,8$	3,8	0,0004
Проба Норна, с	$7,2 \pm 2,5$	$8,9 \pm 2,3$	2,2	0,0297

Примітка: n – кількість хворих; p – рівень значущості відмінностей показника; t – коефіцієнт Стюдента; M – середнє значення; SD – стандартне відхилення.

ня рогівки, і показник OSDI становив в середньому $17,0 \pm 2,0$ балів, тоді як середній ступінь переважав у пацієнтів першої групи, які мали ІЦД 2, і пошкодження рогівки у вигляді точкової кератопатії. В цій групі пацієнтів показник згідно опитувальника в середньому складав $28,0 \pm 2,0$ балів.

За результатами наших досліджень встановлено, що відносний рівень МАН не залежить від статі пацієнта та типу лікування (пацієнти отримували цукрознижуючі таблетовані препарати ($p=0,40$) або ін'єкції інсуліну ($p=0,39$)), віку пацієнта ($p=0,23$), рівня цукру крові ($p=0,19$), тривалості цукрового діабету ($p=0,92$).

Обговорення

Останні дослідження показали, що циркулюючі нейтрофіли можуть демонструвати різноманітні функції, такі як фагоцитоз, синтез білка, участь в окисному обміні. До недавнього часу лише обмежена кількість досліджень стосувалась фенотипічних відмінностей нейтрофілів, і тільки завдяки виявленню високо специфічних нейтрофільних маркерів стало можливим розділити цю субпопуляцію клітин на підгрупи. Протимікробні властивості нейтрофілів до теперішнього часу вважались єдиною функцією. Однак ряд досліджень показав, що нейтрофіли володіють різноманітним набором функціональних реакцій, які виходять за рамки простого знищення мікроорганізмів [27]. Широкий спектр функціональних відповідей нейтрофілів індукується активацією транскрипції і змінами в експресії поверхневих молекул і їх активності. Ці фенотипічні зміни зазвичай спостерігаються тільки в підгрупі нейтрофілів, що показує на наявність гетерогенних фенотипів цих клітин.

Наряду з захисними функціями нейтрофілів показано існування активного стану нейтрофілів, який може при певних умовах призводити до додаткового пошкодження тканин. Вивільнення цитотоксичних продуктів, що містяться в гранулах нейтрофілів, призводить до порушення цілісності тканин [19].

В теперішній час накопичено небагато матеріалу, що дозволяє розглядати активацію нейтрофілів в якості реакції, що в ряді умов може призводити до безконтрольної цитотоксичності і деструкції тканин [19].

Слід відмітити, що поведінка активованих нейтрофілів, які циркулюють в крові, значно відрізняється від їх поведінки в тканинах. Проведені дослідження Wedmore C. V., Williams T. J. (1981) показали, що активовані нейтрофіли викликають формування зазорів між ендотеліальними клітинами і підвищення проникності, дисоціацію білків міжклітинних контактів в ендотелії [20].

Взаємодія циркулюючих нейтрофілів з активованим ендотелієм – центральна подія в процесі запалення. Вона включає різноманітні молекулярні події, що пов'язані з адгезією та міграцією нейтрофілів, а також з порушенням проникності ендотелію. Для ініціації цитотоксичної активності нейтрофіли повинні бути кос-

тимувовані як запальними медіаторами, так і адгезійними поверхнями [21].

Надмірна нерегульована адгезія нейтрофілів може призвести до пошкодження ендотелію протеазами і оксидантами [22].

Дисфункція ендотелію і підвищений рівень прозапальних цитокінів призводить до лейкостазу, підсилюють взаємодію лейкоцитів і клітин епітелію. При активації нейтрофілів відбувається вивільнення нейтрофільної еластази і мієлопероксидази з гранул, що призводить до пошкодження рогівки.

На різних моделях тварин і при захворюваннях людини було показано, що запобігання або зменшення адгезії лейкоцитів до ендотелію часто призводить до значного зменшення мікроциркуляторних і паренхіматозно-клітинних дисфункцій [23].

Також існує припущення, що інфільтрація Т-лімфоцитами очної поверхні, зокрема залучення клітин Th1 і Th17, бере участь у пошкодженні епітеліальних клітин поверхні ока і відіграє значну роль в розвитку хвороби сухого ока [9,10].

Нами були проведені експериментальні дослідження на кроликах, в яких на моделі стрептозотоцинового діабету досліджена активність окисно-відновних ферментів та рівень глутатіону в рогівці, кон'юнктиві та слюзі тварин. Встановлено, що активність окисно-відновних ферментів в рогівці тварин з кон'юнктивітом в гострій фазі запального процесу на фоні стрептозотоцинового діабету помітно знижувалась, порівняно з даними, де кон'юнктивіт викликали без модельованого діабету. В слізній рідині в цих умовах активність оксидоредуктаз (лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) значно підвищена, що свідчить про порушення стабільності клітинних мембранних структур [13, 15]. Також було відмічено, що розвиток запального процесу в кон'юнктиві при гіперглікемії викликає більш важкі порушення глутатіонового статусу в порівнянні з його змінами в кон'юнктиві тварин без діабету, а саме зниження рівня відновленого глутатіону та підвищення рівня окисленого глутатіону [14, 16, 17]. Отримані результати свідчать про порушення антиоксидантної системи та пошкодження лізосомальних мембран епітеліальних клітин при модельованому діабеті, які відіграють важливу роль в забезпеченні гомеостазу поверхні ока.

Нами вперше було вивчено відносний рівень експресії МАН (CD15) в периферичній крові у пацієнтів з ХСО та ІЦД2.

З огляду на те, що активовані нейтрофіли відіграють певну роль в розвитку змін на поверхні ока (запуск імунно-запальних процесів), а саме тих, які запускають механізми її пошкодження, то доцільним було б розглядати включення в комплекс лікування хворих з ІЦД2 антинейтрофільної терапії, мета якої в основному направлена на зменшення викиду медіаторів запалення.

Застосування протизапальної (антинейтрофільної) терапії зменшує проникність капілярів і, отже, знижує інтенсивність ексудативного компонента запального процесу; стабілізує лізосомальні мембрани і зменшує вихід лізосомальних ферментів, знижуючи тим самим альтерацію тканин, пригнічує синтез медіаторів запалення [18, 19].

Виявлені нами відмінності у відносному рівні МАН в групі хворих з ЦД і ХСО з наявністю точкової кератопатії та без неї дозволяють вважати, що маркер активації нейтрофілів (CD15) може використовуватись в якості субклінічного попередника активації імунно-запального процесу в рогівці.

Отримані дані дозволяють припустити, що активовані нейтрофіли можуть запускати імунно-запальні реакції, які призводять до пошкодження рогівки у пацієнтів з ЦД2 (за рахунок вироблення прозапальних цитокінів).

Розуміння механізмів і ролі нейтрофілів в розвитку патологічних процесів в рогівці у пацієнтів з ЦД2 і ХСО дозволяє зробити висновок про необхідність використання протилейкоцитарних препаратів для профілактики прогресування кератопатії.

Тому потрібні подальші дослідження, щоб визначити, як змінюється фенотип нейтрофілів при хворобі сухого ока для кращого розуміння їх ролі у порушеннях регуляції стану очної поверхні та оцінити їх роль як біомаркерів захворювання.

Висновки

1. Встановлено, що у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та хворобою сухого ока з пошкодженням рогівки у вигляді точкової кератопатії відносний рівень маркеру активації нейтрофілів (CD15) достовірно вищий і складає в середньому 46,7 %, в порівнянні з пацієнтами з цукровим діабетом 2 типу та хворобою сухого ока, в яких рогівка була інтактною (середній показник – 28,5 %, $p=0,0001$).

2. Виявлено достовірний негативний кореляційний зв'язок між відносним рівнем маркеру активації нейтрофілів та загальною сльозопродукцією (проба Ширмера, $r=-0,32$, $p=0,032$) і часом розриву слізної плівки (проба Норна, $r=-0,34$, $p=0,019$).

Література

1. Zhmud T.M., Malachkova N.V., Andrushkova O.O., Hrizhymalska K.Y. Meibomian gland dysfunction and dry eye disease symptoms in patients with type 2 diabetes mellitus // Reports of Morphology. – 2019. – Vol. 25, №4. – P.51-55.
2. Han Zhao, Yan He, Yue-Rong Ren, Bai-Hua Chen. Corneal alteration and pathogenesis in diabetes mellitus // Int J Ophthalmol. – 2019. – Vol. 12(12). – P.1939-1950.
3. Threatt J., Williamson J.F., Huynh K., Davis R.M., Her-mayer K. Ocular disease, knowledge and technology applications in patients with diabetes // Am J Med Sci. – 2013. – Vol. 345(4). – P.266-270.
4. Markoulli M., Flanagan J., Tummanapalli S.S., Wu J., Willcox M. The impact of diabetes on corneal nerve mor-phology and ocular surface integrity // Ocul Surf. – 2018. – Vol.16(1). – P.45-57.
5. Craig J.P., Nichols K.K., Akpek E.K., Caffery B. et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report // Ocul. Surf. – 2017. – Vol.15(3). – P.276-283.
6. Arafat S.N., Suelves A.M., Spurr-Michaud S., Chodosh J. et al. Neutrophil collagenase, gelatinase, and myeloperoxidase in tears of patients with Stevens-Johnson Syndrome and Ocular Cicatricial Pemphigoid // Ophthalmology. – 2014. – Vol.121(1). – P.79-87.
7. Arafat S.N., Robert M-C., Abud T., Spurr-Michaud S. et al. Elevated neutrophil elastase in tears of ocular graft-versus-host disease patients // Am. J. Ophthalmol. – 2017. – Vol.176. – P.46-52.
8. Tibrewal S., Sarkar J., Jassim S.H., Gandhi S., Sonawane S. et al. Tear fluid extracellular DNA: diagnostic and therapeutic implications in dry eye disease // Invest. Ophthalmol. – Vis Sci. – 2013. – Vol. 54(13). – P.8051-8062.
9. Stevenson W., Chauhan S.K., Dana R. Dry eye disease: An immune-mediated ocular surface disorder // Arch Ophthalmol. – 2012. – Vol. 130(1). – P.90-100.
10. Perez V.L., Pflugfelder S.C., Zhang S., Shojaei A., Haque R. Lifitegrast, a novel integrin antagonist for treatment of dry eye disease // Ocul. Surf. – 2016. – Vol. 14(2). – P.207-215.
11. Postnikoff C.K., Huisinck C., McGwin G., Nichols K.K. Leukocyte distribution in the open eye tears of normal and dry eye subjects // Curr Eye Res. – 2018. – Vol. 43(10). – P.1253-1259.
12. Sonawane S., Khanolkar V., Namavari A., Chaudhary S., Gandhi S., Tibrewal S., Jassim S.H., Shaheen B., Hallak J., Horner J.H., et al. Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: A new paradigm for inflammation in dry eye disease. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012;53(13):8253-8263.
13. Жмудь Т. М. Інтенсивність окисно-відновних процесів у рогівці за експериментального кон'юнктивіту та розвитку цукрового діабету // Офтальмологія. – 2015. – № 2 (02). – С. 202-210.
14. Дрожжина Г.И., Жмудь Т.М. Экспериментальные пред-посылки для коррекции уровня глутатиона в ткани сли-зистой оболочки и слезной жидкости при остром конъюнктивите в условиях гипергликемии // Офтальмол. журн. – 2014. – №6. – С. 66-71.
15. Жмудь Т. М. Изменение активности окислительных ферментов в роговице и слезе при кератите в условиях развития диабета [Электронный ресурс] / Т. М. Жмудь, Н. Ф. Леус, Г. И. Дрожжина // Офтальмология. Восточная Европа. – 2018. – Т.8, № 2. – С. 221-232.
16. Жмудь Т.М. Вивчення окисно-відновних потенціалів тіолової системи в рогівці при експериментальному кератиті на фоні розвитку діабету / Т. М. Жмудь // Офтальмол. журн. – 2015. – № 6. – С. 46-49.
17. Жмудь Т.М. Состояние тиоловой системы роговицы при моделировании острого конъюнктивита и стрептозотоцинового диабета // Офтальмология. Восточная Европа. – 2015. – № 4 (27). – С. 42-48.
18. Глузман Д.Ф., Скляренко А.М., Нагорная В.А., Крячок И.А. Диагностическая иммунология опухолей. – К.: Морион, 2003. – С. 140-142.
19. Галкин А. А., Демидова В. С. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. – 2015. – Т.2. – С. 25-31.

20. **Wedmore C. V., Williams T. J.** Control of vascular permeability by polymorphonuclear leukocytes in inflammation // *Nature*. – 1981. – V. 289. – № 5799. – P. 640–650.
21. **Segel G., Halterman M., Lichtman M.** The paradox of the neutrophil's role in tissue injury // *J. Leukoc. Biol.* – 2011. – V. 89 (3). – P. 359–372.
22. **Panes J., Perry M., Granger D.N.** Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – V. 126 (3). – P. 537–550.
23. **Cowburn A. S., Condiffe A. M., Farahi N. et al.** Advances in neutrophil biology // *Clinical implications Chest*. – 2008. – V. 134 (3). – P. 606–612.
24. **Курильців Н. Б., Зборовська О. В., Величко Л. М., Богданова О. В.** Роль CD маркерів у розвитку запалення увеального тракту // *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. – 2021. – №2. – С. 96–101.
25. **Winebrake J.P., Drinkwater O.J., Brissette A.R. et al.** The TFOS Dry Eye Workshop II: Key Updates. *Ophthalmic Pearls. CORNEA*. 2017.
26. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Work Shop (2007). – 2007. – Vol.5(2). – С.75-92.
27. **Потапов М.П., Гущина Л.М., Мороз Л.А.** Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии // *Иммунология*. – 2019. – Т. 40. – С.584-596.

Автори висловлюють вдячність за допомогу в статистичній обробці даних Драгомарецькій О. І.

Автори заявляють про відсутність жодного реального чи потенційного конфлікту інтересів (фінансові, персональні, професійні та інші інтереси), які б могли вплинути на думку стосовно предмету чи матеріалів описаних та обговорених в даній рукописі.

Поступила 06.10.2021

Относительный уровень экспрессии маркера активации нейтрофилов у больных с болезнью сухого глаза при сахарном диабете 2 типа

Жмудь Т.М., Дрожжина Г.И., Величко Л.Н., Богданова А.В.

Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова; Винница (Украина)

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины»; Одесса (Украина)

Актуальность. Среди больных с сахарным диабетом одним из самых распространенных и сразу ощущаемых патологических состояний переднего отдела глазного яблока является болезнь «сухого глаза» (БСГ). Согласно данным литературы и по результатам наших предыдущих исследований, проявления БСГ наблюдаются у 60-70% больных с СД 2 типа. Учитывая, что немалую роль в развитии и прогрессировании как СД, так и болезни сухого глаза играет воспаление, то было бы целесообразным изучить именно роль нейтрофилов в этом процессе.

Цель: изучить уровень экспрессии маркера активации нейтрофилов (CD15) у больных с болезнью сухого глаза при сахарном диабете 2 типа.

Материал и методы. В исследование было включено 46 пациентов (92 глаза) с сахарным диабетом 2 типа и БСГ в возрасте $54 \pm 8,0$ лет, мужчин – 19 (40%), женщин – 27 (60%). Стаж диабета составил в среднем $8,8 \pm 6,6$ лет. Сахарный диабет был компенсирован. Всем пациентам были проведены общеофтальмологические и специальные исследования: определение

общей слезопродукции проба (Ширмера I), времени разрыва слезной пленки (проба Норна), тест с флюоресцеином (оценка по Оксфордской шкале), оценка степени тяжести сухого глаза согласно DEWS II, а также оценка субъективного дискомфорта (стандартные опросники OSDI). Определялся также в крови маркер активации нейтрофилов (CD15) гистоиммунохимическим методом.

Результаты. При анализе результатов было установлено, что уровень экспрессии маркера активации нейтрофилов (МАН) у 14 пациентов, которые имели повреждения роговицы по типу кератопатии, составлял в среднем 46,7%, а у 32 пациентов с интактной роговицей средний показатель МАН составил 28,5% ($p=0,0001$). При исследовании уровня экспрессии МАН с пробой Ширмера и пробой Норна обнаружена слабая отрицательная корреляционная связь ($p<0,05$). Коэффициент корреляции МАН с пробой Ширмера составил $r = -0,32$ ($p = 0,032$) и с пробой Норна $-r = -0,34$ ($p = 0,019$).

Ключевые слова: болезнь сухого глаза, сахарный диабет 2 тип, маркер активации нейтрофилов