

Питання клінічної офтальмології

УДК 617.711-004.1-06:616.379-008.64]-085

Цитологічні зміни кон'юнктиви в пацієнтів з хворобою сухого ока та цукровим діабетом 2 типу на тлі лікування комбінацією трегалози і натрію гіалуронату

Т. М. Жмудь¹, канд. мед. наук; Г. І. Дрожжина², д-р мед. наук, професор¹ Вінницький національний медичний університет

Вінниця (Україна)

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

Одеса (Україна)

Мета. Оцінка цитологічних змін кон'юнктиви в пацієнтів з хворобою сухого ока та цукровим діабетом 2 типу на тлі лікування комбінацією трегалози і натрію гіалуронату.

Матеріал і методи. Дане дослідження проводилося з квітня 2023 року по грудень 2023 року в умовах Вінницької обласної клінічної лікарні імені М.І. Пирогова. Під спостереженням було 46 пацієнтів із ЦД 2 типу (92 ока), віком $62,47 \pm 6,24$ років.

Результати. У більшості пацієнтів – 67%, відмічалися патологічні цитологічні зміни кон'юнктиви за шкалою Нельсона. З них, сквамозна метаплазія III ступеня спостерігалась вдвічі частіше, ніж II ступіню, що свідчить про виражені зміни кон'юнктивальної цитологічної картини в цій групі пацієнтів та вказує на значну поширеність плоско клітинної метаплазії в пацієнтів з ЦД 2 типу. Після лікування комбінацією 3% трегалози та 0,15% натрію гіалуронату нейтрофільна інфільтрація спостерігалась тільки у 5 (11%), $p=0,0375$, що може свідчити про протизапальні властивості трегалози.

Висновки. Відмічено значимий вплив комбінації трегалози та натрію гіалуронату на стан поверхні ока, що проявляється зникненням запальної інфільтрації кон'юнктиви в пацієнтів з ЦД 2 типу. На тлі лікування відбувається стабілізація та сповільнення процесу ушкодження епітеліоцитів, що є важливим для пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу і вимагає необхідність довготривалого використання препаратів, що містять комбінацію трегалози 3% та гіалуронової кислоти 0,15%.

Ключові слова:

трегалоза, ЦД 2 типу, хвороба сухого ока, імпресійна цитологія, запальна інфільтрація, поверхня ока, рогівка

Вступ. Епітелій слизової оболонки поверхні ока виконує життєво важливу бар'єрну функцію проти зовнішнього впливу. Цій захисній функції сприяють келихоподібні клітини, які виробляють і секретують муцини, що відіграють ключову роль у підтримці гомеостазу епітелію слизової оболонки ока. Відомо, що муцини не тільки сприяють збереженню цілісності слизової плівки для підтримки її вологості та стійкості, але також служать антимикробними та протизапальними речовинами [1, 2].

Серед захворювань поверхні ока найбільш поширеним є хвороба сухого ока (ХСО). З'ясування патогенезу ХСО вимагає багатовимірного розуміння кількох сприяючих факторів. ХСО часто починається з порушення стабільності слизової плівки, що призводить до гіперосмолярності сльози. Ця гіперосмолярність, у свою чергу, активує каскад запальних процесів за участю різних сигнальних молекул та імунних клітин,

збільшення прозапальних цитокінів, таких як IL-1, IL-6 і TNF- α [3].

Постійне запалення ще більше пошкоджує очний епітелій і посилює порушення стабільності слизової плівки, створюючи порочне коло, яке завершується хронічною ХСО. Крім того, залучення як вродженої, так і адаптивної імунної системи до ХСО створює складний імунологічний стан, де інфільтрація кон'юнктиви та активація Т-клітин відіграють ключову роль. Це, в свою чергу, призводить до порушення функції келихоподібних клітин, тим самим погіршуючи стан поверхні ока. Глибше розуміння цих механізмів має вирішальне значення для розробки цільової терапії пошкодження поверхні ока [3, 4].

Кілька досліджень повідомляли про зниження секреції муцину, а саме MUC5AC келихоподібними клітинами у пацієнтів із сухим оком, що може бути пов'язано як із пошкодженням клітин, так і зі зменшенням їх кількості [5, 6].

Пошкодження очної поверхні в пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу (ЦД 2 типу) зумовлене не лише чинниками зовнішнього середовища, але й порушенням місцевого внутрішнього гомеостазу її структурних та функціональних складових [7].

Було висловлено припущення, що при виникненні змін поверхні ока у пацієнтів з цукровим діабетом ключову роль відіграють хронічна гіперглікемія, пошкодження нервів рогівки та порушення дії інсуліну [8].

Це призводить до зниження регенераторної здатності та зумовлює патологічну продукцію гуморальних факторів і маркерів запалення на тлі прогресуючої нейропатії, що негативно впливає на стан кон'юнктиви в пацієнтів з цукровим діабетом [9], а невідповідність суб'єктивних скарг та об'єктивних даних пошкодження очної поверхні, зумовлює необхідність адекватної оцінки вибору та ефективності лікування пацієнтів з ЦД 2 типу.

У нашому попередньому дослідженні ми досліджували зміни епітелію бульбарної кон'юнктиви у пацієнтів із ЦД 2 типу та виявили, що величина змін залежить від тривалості діабету та рівня глюкози в крові [10].

Наше цитологічне дослідження відбитків бульбарної кон'юнктиви виявило, що вагома кількість пацієнтів (94,1%) із ЦД 2 типу мали плоскоклітинну метаплазію (за класифікацією Нельсона – 2 або 3 ступінь), причому у 80% випадків пацієнти з морфологічними змінами епітелію 3 ступеня за Нельсоном страждали на ЦД 2 типу більше 5 років. Крім того, виражені явища плоскоклітинної метаплазії в слизовій оболонці ока спостерігались в чотири рази частіше серед хворих з анамнезом ЦД 2 типу тривалістю більше 5 років, ніж серед тих, що хворіють менше вказаного терміну [10].

Враховуючи патогенетичні ланки перебігу ЦД 2 типу, препарати трегалози – природного дисахариду, що володіє регенераторними, антиоксидантними, протекторними та зволожуючими властивостями [11], можуть потенційно розглядатись в лікуванні пошкодження очної поверхні в цій групі пацієнтів.

За даними нещодавніх досліджень, препарати трегалози вірогідно покращують стан покривного епітелію та збільшують кількість келихоподібних клітин в кон'юнктиві серед пацієнтів без коморбідності [12]. Проте, такі дані відсутні стосовно пацієнтів з ЦД 2 типу.

Мета: оцінити цитологічні зміни кон'юнктиви у пацієнтів з хворобою сухого ока та цукровим діабетом 2 типу на тлі лікування комбінацією трегалози і натрію гіалуронату.

Матеріал та методи

Дослідження проводилось на базі КНП «Вінницька обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова» з квітня по грудень 2023 р. В роботу включено проспективні дані 46 пацієнтів (92 ока). Проведено аналіз даних пацієнтів до початку лікування та після нього з інтервалом 2 місяці (група Ia та група Ib відповідно).

Середній вік пацієнтів становив $62,47 \pm 6,24$ років. Вибірка була репрезентативною по обох статях: чоловіки – 20 пацієнтів (43%), жінки – 26 пацієнтів (57%). Всі пацієнти мали компенсований перебіг ЦД 2 типу з середніми показниками $Hb1Ac - 6,9 \pm 0,54$, тривалість ЦД 2 типу був не менше 3-х років.

Всі пацієнти отримували препарат трегалози за схемою: 1 крапля 3 рази на добу протягом 2 місяців. В дослідженні використовували комбінований офтальмологічний розчин, що містив 3% трегалозу та 0,15% натрію гіалуронат.

Оцінка цитологічних змін проводилась на основі імпресійної цитології кон'юнктиви за стандартною методикою [13]. Визначали ступінь пошкодження кон'юнктиви за шкалою Нельсона [10] й оцінювали запальну (нейтрофілну) інфільтрацію зразків кон'юнктиви до та після лікування. Згідно шкали Нельсона 15 пацієнтів мали 0 – I ступінь, 10 – II і 30 – III сквамозної метаплазії.

Критерії включення: хворі з компенсованим цукровим діабетом 2 типу, у яких індекс захворювання поверхні ока (використовували стандартизований опитувальник OSDI) був 13-32 [14]; неінвазивний час розриву слізної плівки (NIBUT) менше 10 с (автоматизований аналізатор SLMOphthalmicSlitLamp; SLM-6E); тест Ширмера I менше 10 мм/5 хвилин; фарбування 1% розчином флуоресцеїну за Оксфордською шкалою відповідало I та II ступеням [15].

Критерії виключення: наявність оперативних втручань на оці, очної травми; лікування хвороби сухого ока, в тому числі з використанням штучної сльози, місцевих стероїдів, циклоспорину; інші ураження очей, такі як глаукома, аномалії повік, халязіон, використання контактних лінз; системні ураження, такі як гіпертиреоз і ревматоїдні захворювання.

Дослідження було виконане відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Всі пацієнти, включені в дослідження, надали письмову інформовану згоду на участь в ньому. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програмного пакета для статистичного аналізу STATISTICA v.10.0 (StatSoft, USA). Дані представлено у вигляді $M \pm SD$, де M – середнє значення показників, SD – стандартне відхилення та/або медіани значень. Оцінку нормальності проводили за критерієм Колмогорова-Смирнова. Параметричний аналіз нормально розподілених даних здійснювався на основі 2-вибіркового (для залежних вибірок), 2-хвостого t-тесту Стьюдента, непараметричні дані оцінювались за допомогою точного критерію Фішера. Значення $p < 0,05$ вважалось достовірним.

Результати

За даними імпресійної цитології, до лікування в групі Ia – 33% – 15 пацієнтів мали нормальний стан покривного епітелію кон'юнктиви (ступінь 0-1), який характеризувався наявністю пластів переважно округлих та в меншій мірі невеликих полігональних клітин зі збереженими міжклітинними зв'язками, нормальним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, достатньою кількістю пухких келихоподібних клітин (більше 6-10 в полі зору) (рис. 1).

Однак, у більше, ніж половини пацієнтів – 67%, відмічалися патологічні зміни цитології кон'юнктиви за шкалою Нельсона. З них, сквамозна метаплазія III ступеня спостерігалась вдвічі частіше, ніж II ступінь, що свідчить про виражені зміни кон'юнктивальної цитологічної картини в цій групі пацієнтів та вказує на значну поширеність плоскоклітинної метаплазії в пацієнтів з ЦД 2 типу (табл.1).

Цитологічна картина пацієнтів зі змінами слизової оболонки кон'юнктиви, що відповідають II ступеню за класифікацією Нельсона, характеризувалась епітеліальними пластами з розширеним міжклітинним простором, які складались, переважно, полігональними

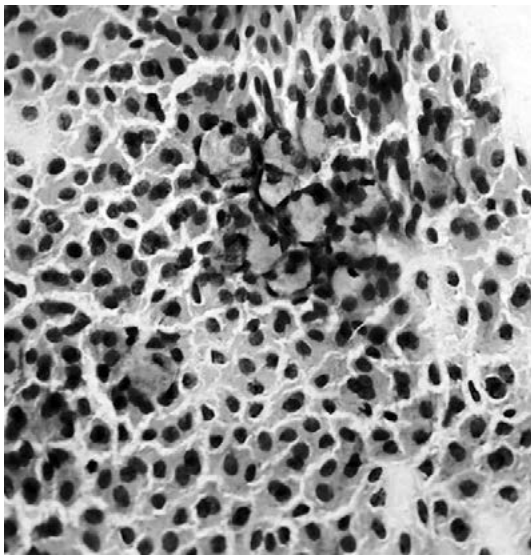


Рис. 1. Відбитки кон'юнктивального епітелію, Nelson 0 ст. ($\times 100$, $\times 400$, забарвлення гематоксилін-еозином).

Таблиця 1. Оцінка цитологічних змін кон'юнктиви за даними імпресійної цитології

Ступінь за шкалою Нельсона	До лікування (група Ia)		Після лікування (група Ib)		p
	абс.	%	абс.	%	
0-I	15	33	17	37	0,8270
II	10	22	14	30	0,4768
III	21	45	15	33	0,2854

Примітка. Різниця вірогідно значима при $p < 0,05$.

клітинами з ядерно-цитоплазматичним співвідношенням – 1:2, 1:3. Клітини округлої форми спостерігались в невеликій кількості, вміщували подекуди вакуолі в цитоплазмі, формували поодинокі кластери. Клітинні зв'язки в структурах були місцями втрачені. Келихоподібні клітини – малого розміру, овальної форми, зустрічались в зменшеній кількості (0-2-5 в полі зору).

Для III ступеню епітеліальних змін характерною була відсутність келихоподібних клітин, втрата міжклітинних зв'язків та наявність окремо розташованих дещо поліморфних полігональних клітин з ядерно-цитоплазматичним співвідношенням більше 1:4, подекуди з пікнотичними ядрами, двоядерністю, вакуолями, зернами кератогаліну в цитоплазмі (рис. 2).

Після лікування, кількість пацієнтів з 0 – I ступенями зросла на 2%, при цьому цей показник не був статистично достовірним ($p=0,8270$). Перехід патологічних ступенів плоскоклітинної метаплазії в групі Ib також не був вірогідним (табл. 1).

На фоні лікування відмічалась тенденція до покращення деяких показників, що проявлялось в невеликому збільшенні кількості келихоподібних клітин, набутті ними округлої пухкої форми, відновленні міжклітинних зв'язків в пластах полігональних клітин, зменшенні ознак дистрофії, що є важливим для збереження функціональної здатності келихоподібних клітин (рис. 3).

Так, у пацієнтів групи Ib шанс виявити 0-I ступені за Нельсоном становив 1,2 в порівнянні з групою Ia (ВШ=1,2; ДІ 95% 0,513-2,861; $P=0,6617$). На нашу думку, це може бути пов'язано з достатньо коротким періодом дослідження й зменшенням регенераторного потенціалу кон'юнктиви на тлі ЦД 2 типу та впливу хронічної гіперглікемії на цей процес.

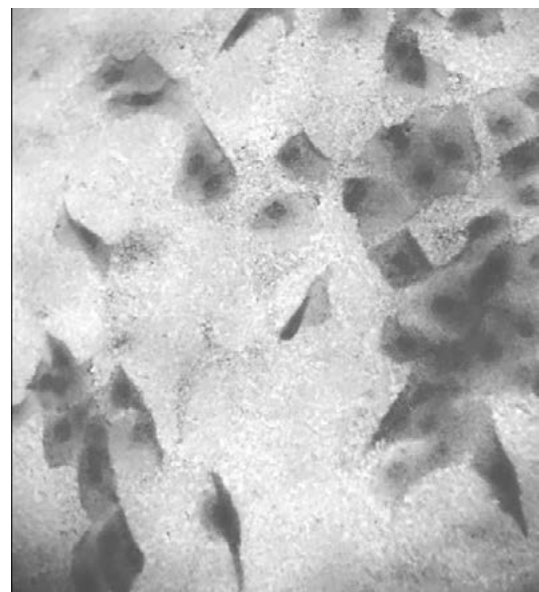


Рис. 2. Відбитки кон'юнктивального епітелію, Nelson III ст. Полігональні окремо розташовані клітини з цитолізмом ($\times 100$, $\times 400$, забарвлення гематоксилін-еозином).

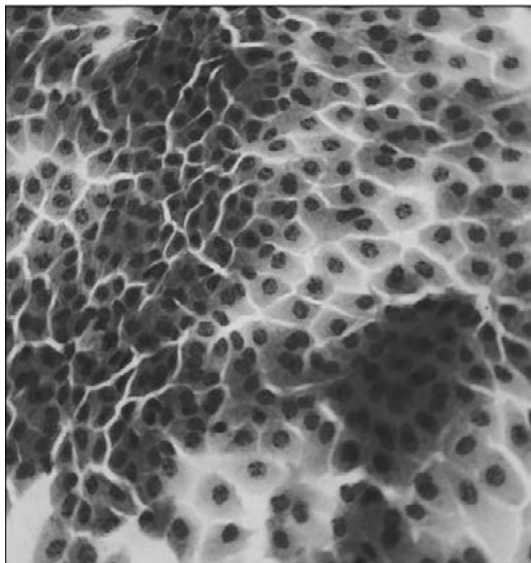


Рис. 3. Відбитки кон'юнктивального епітелію, Nelson II ст. Два місяці після лікування. Клітини стали менші, округлі та полігональні, зв'язки міжклітинні відновлюються, подекуди ядра гіпертрофовані, що свідчить про репарацію.

Субклінічна запальна інфільтрація кон'юнктиви відмічалась у 14 пацієнтів групи Ia (30%), що свідчить про деяку автономність процесів запалення в пацієнтів з ЦД 2 типу та перехід від компенсаторних механізмів регуляції гомеостазу кон'юнктиви (паразапалення), в активний процес (рис.4).

Після лікування комбінацією 3% трегалози та 0,15% натрію гіалуронату нейтрофільна інфільтрація спостерігалась тільки у 5 (11%), $p=0,0375$, що може свідчити про протизапальні властивості комбінації трегалози та натрію гіалуронату.

Обговорення

Трегалоза є природним дисахаридом, що володіє стійкістю до кислотного гідролізу та дегідратації, а також протективно впливає на широкий спектр біологічних сполук, включаючи ДНК та білки, а також клітини кон'юнктиви і рогівки [12, 16], що зумовлює його використання як ефективного агента в симптоматичному лікуванні хвороби сухого ока та пошкоджень очної поверхні. Як свідчить Sejková J. et al. [17], застосування трегалози після опромінення рогівки вже через один тиждень вірогідно знижує загибель епітеліальних клітин шляхом апоптозу та нормалізує рівень прозапальних маркерів через 2 тижні її місцевого застосування.

Тривалість лікування в нашому дослідженні склала 60 діб, при цьому ми не відмічали статистично вірогідних змін об'єктивних тестів, таких як неінвазивний час розриву слізної плівки та тест Ширмера I.

В дослідженні DoanS. et al. [18] проводилось порівняння ефективності застосування гіалуронової кислоти та її комбінації з трегалозою. Тривалість терапії складала 84 доби, а оцінка здійснювалась за опитувальником OSDI. При цьому зафіксовано показник

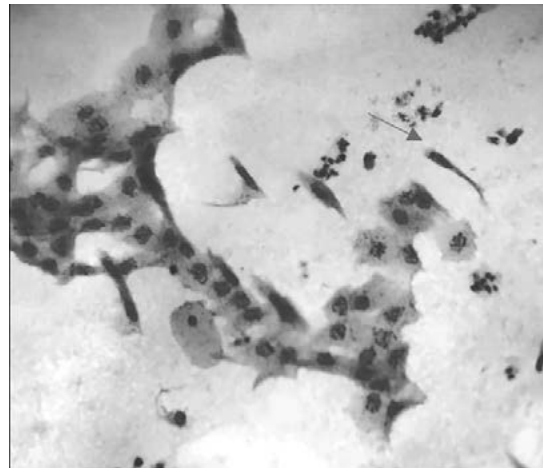


Рис. 4. Відбитки кон'юнктивального епітелію, Nelson III ст. Запальна інфільтрація, нейтрофіли – справа ($\times 100$, $\times 400$, забарвлення гематоксилін-еозином).

OSDI < 19 в 78,8%, що в порівнянні з групою гіалуронової кислоти – 58,5%; був статистично значимим ($p=0,025$). Варто зазначити, що на 35 день дослідження змін теж не було зафіксовано. Такі дані вказують, що ефект трегалози розвивається поступово, а враховуючи наявність позитивної динаміки змін ступенів Нельсона в групі Ib, ми припускаємо необхідність тривалого прийому препарату для досягнення вірогідного покращення.

В дослідженні Fariselli C. et al. [12], призначення трегалози пацієнтам з хворобою сухого ока вірогідно підвищувало кількість келихоподібних клітин, зменшувало ступінь плоскоклітинної метаплазії, покращувало показники флуоресцеїнового тесту розриву слізної плівки. У вищезгаданому дослідженні оцінка результатів проводилась через два місяці, а режим лікування не відрізнявся від нашої роботи. І хоча ми відмічали зниження кількості пацієнтів з III ступенем за Нельсоном до та після лікування з 45% до 33% відповідно, та підвищення кількості пацієнтів з 0-I ступенями за Нельсоном: з 15% до 17%, проте ці зміни не були статистично значимими.

В дослідженні Cagini C. et al. [11], призначення трегалози пацієнтам в післяопераційному періоді з приводу катаракти показувало статистичне покращення показників OSDI, чутливості та кількості кліпань уже на 4 тиждень спостереження.

Обмеження даного дослідження включають відносно невеликий розмір вибірки, комбінований склад препарату та виключно внутрішньогрупову оцінку результатів лікування серед пацієнтів з ЦД 2 типу. Дані обмеження будуть вирішені в наших подальших дослідженнях із залученням контрольної групи пацієнтів без ЦД 2 типу та оцінкою тенденцій впливу препарату трегалози на стан кон'юнктиви в практично здорових осіб, в порівнянні з когортою хворих з ЦД 2 типу; а також будуть проведені дослідження впливу препара-

тів з гіалуроновою кислотою на цитологічні зміни в кон'юнктиві у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

Заключення. Відмічено значимий вплив комбінації трегалози та натрію гіалуронату на стан поверхні ока, що проявляється зникненням запальної інфільтрації кон'юнктиви в пацієнтів з ЦД 2 типу ($p=0,0375$). На тлі лікування відбувається стабілізація та сповільнення процесу ушкодження епітеліоцитів, що є важливим для пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу і вимагає необхідності довготривалого використання препаратів, що містять комбінацію трегалози 3% та гіалуронової кислоти 0,15%.

Автори висловлюють подяку Сучок С.О за допомогу в статистичній обробці результатів дослідження та Демчук А.В. за допомогу в цитологічному дослідженні.

Література

1. **Gipson IK.** The ocular surface: the challenge to enable and protect vision: the Friedenwald lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007 Oct;48(10):4390-4391-8.
2. **Swamynathan SK, Wells A.** Conjunctival goblet cells: Ocular surface functions, disorders that affect them, and the potential for their regeneration. Ocul Surf. 2020 Jan;18(1):19-26.
3. **Aragona P, Giannaccare G, Mencucci R, Rubino P, Cantera E, Finocchiaro CY, et al.** The Management of Dry Eye Disease: Proceedings of Italian Dry Eye Consensus Group Using the Delphi Method. J Clin Med. 2022 Oct 30;11(21):6437.
4. **Barabino S, Aragona P, di Zazzo A, Rolando M; with the contribution of selected ocular surface experts from the Società Italiana di Dacriologia e Superficie Oculare.** Updated definition and classification of dry eye disease: Renewed proposals using the nominal group and Delphi techniques. Eur J Ophthalmol. 2021 Jan;31(1):42-48.
5. **Argüeso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK.** Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjögren syndrome. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2002 Apr;43(4):1004-11.
6. **Shimazaki-Den S, Dogru M, Higa K, Shimazaki J.** Symptoms, visual function, and mucin expression of eyes with tear film instability. Cornea. 2013 Sep;32(9):1211-8.
7. **Naik K, Magdum R, Ahuja A, Kaul S, S J, Mishra A, et al.** Ocular Surface Diseases in Patients With Diabetes. Cureus. 2022;14(3):e23401.
8. **AlvesMde C, Carvalho JB, Módulo CM, Rocha EM:** Tear film and ocular surface changes in diabetes mellitus. Arq Bras Oftalmol. 2008, 71:96-103. 10.1590/s0004-27492008000700018
9. **Han SB, Yang HK, Hyon JY.** Influence of diabetes mellitus on anterior segment of the eye. Clin Interv Aging. 2019;14:53-63.
10. **Zhmod TM, Drozhzhyna GI, Demchuk AV** Cytological features of the bulbar conjunctiva in patients with type 2 diabetes 1. J ophthalmol. 2021. 498:24-31.

11. **Cagini C, Torroni G, Mariniello M, DiLascio G, Martone G, Balestrazzi A.** Trehalose/sodium hyaluronate eye drops in post-cataract ocular surface disorders. International ophthalmology. 2021; 41(9), 3065-3071.
12. **Fariselli C, Giannaccare G, Fresina M, Versura P.** Trehalose/hyaluronate eye drop effects on ocular surface inflammatory markers and mucin expression in dry eye patients. Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.). 2018; 12, 1293-1300.
13. **Zhmod T, Drozhzhyna G, Malachkova N.** Evaluation and comparison of subjective and objective anterior ocular surface damage in patients with type 2 diabetes mellitus and dry eye disease. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023;261(2):447-52.
14. **Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, et al.** TFOS DEWS II Definition and Classification Report. Ocul Surf. 2017 Jul;15(3):276-283.
15. **Bron AJ, Evans VE, Smith JA.** Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. Cornea. 2003; 22(7):640-650.
16. **Chen A, Gibney PA.** Dietary Trehalose as a Bioactive Nutrient. Nutrients. 2023; 15(6), 1393.
17. **Cejková J, Cejka C, Luyckx J.** Trehalose treatment accelerates the healing of UVB-irradiated corneas. Comparative immunohistochemical studies on corneal cryostat sections and corneal impression cytology. Histol Histopathol. 2012 Aug;27(8):1029-40.
18. **Doan S, Bremond-Gignac D, Chiambaretta F.** Comparison of the effect of a hyaluronate-trehalose solution to hyaluronate alone on Ocular Surface Disease Index in patients with moderate to severe dry eye disease. Curr Med Res Opin. 2018 Aug;34(8):1373-1376.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Автор листування: Жмудь Тетяна Михайлівна – gtatyana@email.ua

Внесок кожного автора в роботу: Жмудь Т.М. – розробка концепції, проектування, збір та аналіз даних, методологія, програмне забезпечення, написання – підготовка початкового проекту, рецензування та редагування; Дрожжина Г.І. – розробка концепції, підготовка рукопису, методологія, написання – рецензування та редагування. Усі автори проаналізували результати та схвалили остаточний варіант рукопису.

Відмови від відповідальності: висловлені у поданій статті думки є власними думками авторів, а не офіційними позиціями установи.

Джерела підтримки: відсутні.

Конфлікт інтересів. Автори засвідчують про відсутність конфліктів інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Надійшла 04.01.2024