

Рівень лактоферину й церулоплазміну в сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями рогівки

І. В. Гавриляк¹, аспірант; Д. Г. Жабосдов¹, д-р мед. наук, професор; Н. К. Гребень¹, канд. мед. наук; А. О. Тихомиров², д-р біол. наук

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

² Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
Київ (Україна)

Актуальність. Вивчення механізмів загоєння ран рогівки до сьогодні залишається актуальною проблемою й доповнюється новими даними. Крім цілісності епітелію, для підтримання гомеостазу очної поверхні важлива сльозова рідина, яка являє собою складну суміш білків, ліпідів, метаболітів різної структури та функціональності. Вивчення змін біохімічного складника сльози вагоме для діагностики й лікування травм рогівки.

Мета – визначення рівня лактоферину та церулоплазміну в слізній рідині пацієнтів із травматичними й рецидивуючими ерозіями рогівки та його змін під час комплексного лікування.

Матеріал і методи. Всього в дослідженні взяло участь 62 пацієнти у віці від 19 до 65 років: перша група – 44 пацієнти з травматичною ерозією рогівки, друга група – 18 пацієнтів із рецидивуючою ерозією рогівки. Перша підгрупа отримувала очні краплі з антибіотиком (АБ) широкого спектру дії й декспантенол протягом курсу лікування. Друга підгрупа додатково отримувала очні краплі з основною діючою речовиною лактоферин (ЛФ). Усім пацієнтам проведено стандартне офтальмологічне обстеження, що включало визначення гостроти зору, біомікроскопію та флуоросцеїновий тест. Рівні лактоферину й церулоплазміну в сльозі визначали за допомогою моноспецифічних антитіл. Сльозову рідину здорових добровольців використовували як контроль.

Результати. У сльозі пацієнтів із травматичними ерозіями рогівки до лікування відмічається зниження рівня ЛФ до $3,94 \pm 0,45$ у. о. порівняно з контрольною групою $10,3 \pm 0,4$ у. о. ($p < 0,05$), що призводить до зниження захисної функції поверхні ока в разі дії пошкоджувального фактору. У пацієнтів, які отримували лікування АБ і декспантенолом, після лікування відмічено підвищення рівня ЛФ до $6,38 \pm 0,55$ у. о. ($p < 0,05$) і період лікування в середньому становив $7,6 \pm 0,43$ днів ($p = > 0,1$). Водночас у підгрупі, що отримувала додатково ЛФ в очних краплях, період лікування в середньому становив $6,0 \pm 0,23$ днів ($p = 0,05$) і рівень ЛФ досягав $12,23 \pm 0,6$ у. о. ($p < 0,05$). У пацієнтів із травматичними й рецидивуючими ерозіями рогівки до лікування відмічається поява церулоплазміну (ЦП) у сльозі на ранніх етапах захворювання, що свідчить про активацію гострого запального процесу, становить $2,37 \pm 0,25$ у. о. ($p < 0,05$) і $1,78 \pm 0,2$ у. о. відповідно. У разі застосування крапель ЛФ для лікування ерозій спостерігається зворотний кореляційний зв'язок між рівнем ЛФ і ЦП ($r = 0,491$) – збільшення рівня ЛФ і зменшення ЦП до їх рівня в групі контролю, на рівні значимості $p < 0,001$.

Висновки. Отримані результати підтверджують доцільність використання очних крапель на основі лактоферину, які сприяють відновленню гомеостазу поверхні ока й епітелізації рогівки, у комплексному ліванні травматичних і рецидивуючих ерозій рогівки, що дає змогу зменшити термін лікування.

Ключові слова:

рогівка, ерозія рогівки, травма рогівки, лактоферин, церулоплазмін, рецидивуюча ерозія рогівки, травматична ерозія рогівки

Актуальність. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, щороку реєструється близько 55 млн. випадків травми ока, що призводить до тимчасової або постійної втрати працездатності [1, 2]. Одним із наслідків травми ока є порушення прозорості та структури рогівки, що, у свою чергу, зумовлює значне зниження або втрату зору і є важливою соціально-економічною проблемою. Захворюваність на сліпоту через травми ока становить 9 на 100 000 осіб у розви-

нених країнах і 75 на 100 000 – у країнах, що розвиваються [1, 2, 3].

Ерозія рогівки – найпоширеніший вид травми переднього відділу ока, становить близько 80% звернень за невідкладною офтальмологічною допомогою. Ерозія рогівки – це дефект її епітеліального шару до боуменової мембрани, що виникає внаслідок різноманітних

механічних, фізичних і хімічних факторів. Поверхневі ерозії рогівки епітелізуються протягом 24–48 годин через швидку регенерацію багатшарового неороговілого епітелію з відновленням морфологічної структури та функції ока [1, 3]. У разі ураження глибоких шарів відбувається патологічна регенерація, що проявляється стійким змінами в морфології рогівки [4].

В окремих випадках у разі травми не відновлюється структура рогівки на рівні базальної мембрани. Близько 65% зареєстрованих випадків рецидивуючої ерозії пов'язані з попередньою травмою ока. Хронічне запалення внаслідок травми рогівки викликає руйнування базальної мембрани епітелію та послаблює мережу позаклітинної адгезії, як правило, на рівні напівдесмосом [5, 7]. Рецидивуюча ерозія рогівки (РЕР) – це поліетіологічне захворювання, що характеризується епізодами появи спонтанних дефектів епітелію рогівки й супроводжується раптовим болем в оці після пробудження від сну, слезотечею, блефароспазмом, світлобоязню, відчуттям стороннього тіла в оці [6, 7]. Тому вивчення механізмів загоєння ран рогівки до сьогодні залишається актуальною проблемою й доповнюється новими даними. Крім цілісності епітелію, у підтриманні гомеостазу очної поверхні важлива слезова рідина, яка являє собою складну суміш білків, ліпідів, метаболітів різної структури та функціональності. Вивчення змін біохімічного складника слези важливе для діагностики й лікування травм рогівки, зокрема таких протеїнів, як лактоферин і церулоплазмін [8, 9].

Лактоферин – це залізов'язуючий глікопротеїн, який належить до сімейства трансферинів, становить близько 25% від загальної кількості протеїнів слези й забезпечує захист поверхні ока. Визначено імуномодельючу та протизапальну дію лактоферину, його роль у разі гострого й хронічного запалення поверхні ока. Результати досліджень виявили вплив лактоферину як на вроджену, так і набуту імунну відповідь, на забезпечення антиоксидантної дії, він сприяє зменшенню впливу оксидативного стресу й запалення в тканинах [10, 11, 12]. Дефіцит лактоферину має місце в разі хвороби сухого ока, кератоконусу та низки інших патологічних станів передньої поверхні ока [11, 12]. Утім динаміка кількісних змін лактоферину в слезовій рідині в ході репаративних процесів у разі травми рогівки залишається недослідженою.

Церулоплазмін – протеїн гострої фази запалення, що належить до сімейства мультоксидаз міді, рівень якого істотно зростає при нейродегенеративних, запальних і метаболітичних станах. Основною фізіологічною реакцією, що каталізується церулоплазміном, є окислення Fe^{2+} до Fe^{3+} , що дає змогу зв'язувати вільне залізо з трансферином [13]. Раніше виявлено, що лактоферин і церулоплазмін людини взаємодіють як *in vivo*, так й *in vitro*, утворюючи комплекс, який запускає механізм антиоксидантних процесів у разі пошкодження. Також цей комплекс ідентифіковано в зразках

сироватки й гнійних ексудатів пацієнтів із різними запальними захворюваннями [14].

Метою дослідження є визначення рівня лактоферину та церулоплазміну в слезовій рідині пацієнтів із травматичними й рецидивуючими ерозіями рогівки та його змін під час комплексного лікування.

Матеріал та методи

До дослідження включено пацієнтів, які зверталися за період 2021–2023 років і лікувалися в клініці КНП «Олександрівська клінічна лікарня», що є клінічною базою Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Від усіх пацієнтів отримана інформована письмова згода. Комітет біоетики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця схвалив дослідження (протокол від 10.11.2020 № 138), яке проведено відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації WMA – «Етичні принципи медичних досліджень із залученням людей» – і Загальної декларації з біоетики та прав людини (ЮНЕСКО).

Усього в дослідженні взяло участь 62 пацієнти у віці від 19 до 65 років ($43,5 \pm 2,4$), із них 34 (54,8%) чоловіки і 28 (45,2%) жінок. Контроль становили 15 практично здорових осіб у віці від 18 до 50 ($35,4 \pm 2,1$), із них 9 (60%) чоловіків і 6 (40%) жінок. Залежно від клінічних проявів пацієнтів поділено на дві групи. До першої групи включено 44 пацієнти з уперше встановленим діагнозом «травматична ерозія рогівки» (ТЕР), яка мала різні етіологічні фактори; до другої групи – 18 пацієнтів із діагнозом «рецидивуюча ерозія рогівки» (РЕР). Цей діагноз установили на основі ретельного збирання анамнезу й огляду. Ураховували такі фактори, як наявність в анамнезі травми поверхні ока та додаткові епізоди ерозії рогівки (мінімум 2).

Досліджувані групи пацієнтів зіставлено за основними клініко-демографічними критеріями. Кожна з груп поділена на підгрупи залежно від способу лікування. Перша підгрупа отримувала очні краплі з антибіотиком (АБ) широкого спектру дії й декспантенол протягом курсу лікування. Друга підгрупа додатково отримувала очні краплі з основною діючою речовиною лактоферин (ЛФ).

Офтальмологічне обстеження включало визначення гостроти зору, біомікроскопію, флуоросцеїновий тест. За допомогою біомікроскопії діагностували стан кон'юнктиви й рогівки, наявність інфільтрації, набряку строми рогівки.

Ступінь гіперемії та ін'єкцію кон'юнктиви очного яблука оцінювали в балах за шкалою: 0 – норма; 1 – незначна змішана ін'єкція; 2 – помірна ін'єкція; 3 – виражена ін'єкція очного яблука. Фарбування рогівки проводили за допомогою офтальмологічних тест-смужок, зону десепітелізації профарбовували в жовто-зелений колір та оцінювали в разі біомікроскопії в синьо-кобальтовому світлі. Пошкодження рогівки оцінювали на основі шкали 5-зонної моделі рогівки, де зона 1 –

зона округлої форми, по центру рогівки й 4 рівномірно розподілені сегменти навколо, що відповідають зонам 2–5 (верхня, темпоральна, назальна й нижня). Ступінь фарбування кожного сектора флуоресцеїном оцінювали в балах за шкалою: 0 – відсутнє фарбування; 1 – поодинокі точкові профарбовування; 2 – множинні точкові профарбовування; 3 – зливне фарбування.

Забір сльози в пацієнтів здійснювали за допомогою мікропіпетки з одноразовим наконечником із нижнього склепіння кон'юнктиви. Сльозову рідину поміщали в стерильну пробірку типу еспендорф із натрій-фосфатним буфером, яка до лабораторного обстеження була заморожена при температурі -20°C . Протеїни сльозової рідини розділяли за допомогою денатуруючого гель-електрофорезу в 10% поліакриламіді, наносячи 50 мкг загального протеїну на доріжку. Протеїни з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану за допомогою електроблотута, визначали рівні лактоферину та церулоплазміну за допомогою моноспецифічних антитіл. Для детекції лактоферину в імуноблоті використовували кролячі поліклональні антитіла, які отримували за методикою, описаною раніше [15]. Імунохімічний аналіз церулоплазміну (ЦП) проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл виробництва Santa Cruz Biotechnology, США (кат. номер sc-365205). Після відмивання від неспецифічно зв'язаних первинних антитіл мембрани інкубували зі вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому (anti-rabbitIgGy розведення 1:6000 та anti-mouse IgG розведення 1:8000, виробництва Invitrogen, USA, каталожні номери G-21234 і 31430 відповідно).

Метод імуноблотингу є різновидом твердофазного імунохімічного аналізу. На відміну від імуноферментного аналізу, імуноблот дає змогу визначити молекулярну масу досліджуваних протеїнів, що надає додаткову інформацію стосовно утворення міжмолекулярних комплексів або наявності продуктів протеолітичного розщеплення білка. Імуноблотинг дає змогу проводити напівкількісний аналіз вмісту білків, оскільки інтенсивність імунозabarвлення і площа білкової зони пропорційні вмісту білка в зразку. Із цією метою використовують денситометричний аналіз блотограм, а рівень протеїну виражають в умовних одиницях (у. о.) [16]

Імунореактивні смуги проявляли за допомогою підсиленої хемілюмінесценції (ECL) за допомогою рентгенівських плівок Kodak або реакції з хромогенним субстратом (0,05% діамінобензидину і 0,03% перекис водню). Напівкількісний аналіз блотограм виконували за допомогою денситометричного програмного забезпечення TotalLab TL120 (NonlinearInc, США). Інтенсивності сигналів досліджуваних білків виражали в умовних одиницях (у. о.).

Статистичну обробку проводили за допомогою програми в пакеті EZR (Freestatisticalsoftware: EZR on R Commander: R FoundationforStatisticalComputing, Vienna, Austria). Значення показників представле-

ні як середнє значення (M) \pm квадратичне відхилення середнього(SD). Різниця між середніми величинами вважалася статистично достовірною при $p<0,05$. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції (r) за Спірменом ($p<0,05$ – статистично достовірно).

Результати

У разі травматичних ерозій рогівки локалізація дефекту розподілилася, відповідно, на центральні – 24 ока (54,5%), і парацентральні – 20 очей (45,5%). Набряк строми й інфільтрацію спостерігали в 13 очах (29,5%).

При PER рідше стикалися з локалізацією в центральній зоні – 8 очей (44,4%), частіше – парацентральні – 10 очей (55,6%). Характерним для цього захворювання є розташування ерозії в нижніх квадрантах. Під час біомікроскопії пацієнтів цієї групи дефект епітелію діагностували у вигляді мікро- та макроформних ерозій, мікроріст, «відбитків пальців» і малюнка «географічні карти». Набряк строми й інфільтрацію рогівки спостерігали в 10 очах (55,6%).

За даними обстеження, клінічні характеристики пацієнтів по групах подано в таблиці 1.

Результати вестернблот-аналізу церулоплазміну та лактоферину по групах у сльозовій рідині до й у динаміці лікування подано на рисунках 1, 2.

За допомогою імуноблот-аналізу зразків сльозової рідини здорових добровольців виявлено середнє значення ЛФ $10,3\pm 0,4$ у. о. На блоті протеїн проявився як головний поліпептид із молекулярною масою 80 кДа, високомолекулярними комплексами 300 кДа й наявністю у відносно незначних кількостях продуктів деградації.

У сльозі пацієнтів із травматичною ерозією до лікування відмічається низький рівень ЛФ – $3,94\pm 0,45$ у. о., порівняно з контрольною групою здорових добровольців на $6,4\pm 0,05$ у. о. менше ($p<0,05$), що призводить до зниження захисної функції поверхні ока в разі дії пошкоджувального фактору.

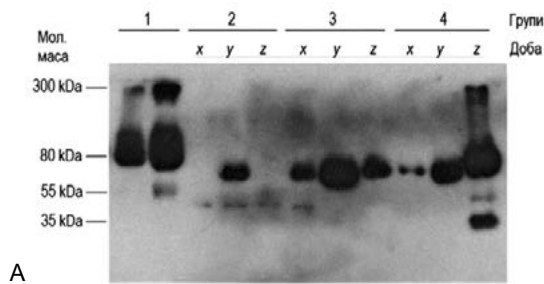
У підгрупі хворих із травматичною ерозією, що отримували лікування АБ й декспантенолом, після лікування відмічається підвищення рівня ЛФ до $6,38\pm 0,55$ у. о., на $2,44\pm 0,1$ у. о. більше порівняно з його рівнем до лікування ($p<0,05$), період лікування в середньому становив $7,6\pm 0,43$ днів. Разом із тим у підгрупі хворих, що отримували додатково ЛФ в очних краплях, період лікування в середньому становив $6,0\pm 0,23$ днів, що на $1,6\pm 0,2$ днів менше, ніж у першій підгрупі ($p=0,05$), рівень ЛФ досягав $12,23\pm 0,6$ у. о., що на $5,85$ у. о. вище, ніж у першій підгрупі ($p<0,05$).

У групі хворих із PER на початкових стадіях захворювання також демонструється низький рівень ЛФ – $4,28\pm 0,4$ у. о., що на $6,02\pm 0,01$ у. о. менше, ніж у здорових добровольців ($p<0,05$). Під час лікування PER АБ з декспантенолом відмічено підвищення рівня ЛФ до $5,81\pm 0,34$ у. о., тоді як у пацієнтів, що додатково отримували ЛФ, його рівень відновлювався до $8,43\pm 0,8$ у.

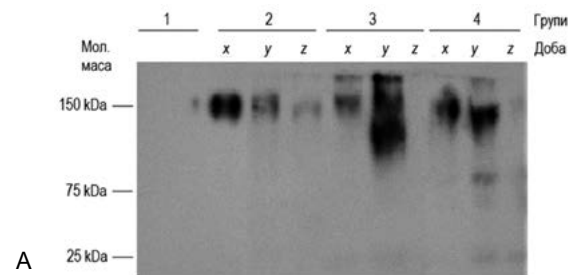
Таблиця 1. Клінічна характеристика пацієнтів із травматичними (група 1) і рецидивуючими (група 2) ерозіями рогівки до та після лікування

		Гострота зору (M±SD)		Бальна оцінка кон'юнктиви		Бальна оцінка рогівки	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Група 1 n=44	Підгрупа 1 (n=20)	0,57±0,2	0,88±0,12	2,13±0,83	0,6±0,19	5,68±2,15	0,6±0,68
	p	p<0,01		p<0,01		p<0,01	
	Підгрупа 2 (n=24)	0,61±0,21	0,92±0,09	2,07±0,79	0,39±0,62	5,55±2,16	0,48±0,66
	p	p<0,01		p<0,01		p<0,01	
Група 2 n=18	Підгрупа 1 (n=8)	0,62±0,19	0,94±0,08	1,7±1,25	0,4±0,52	5,62±2,26	0,5±0,53
	p	p=0,03		p=0,03		p<0,01	
	Підгрупа 2 (n=10)	0,6±0,17	0,96±0,07	1,75±1,03	0,36±0,52	5,9±2,18	0,38±0,52
	p	p<0,01		p<0,01		p<0,01	

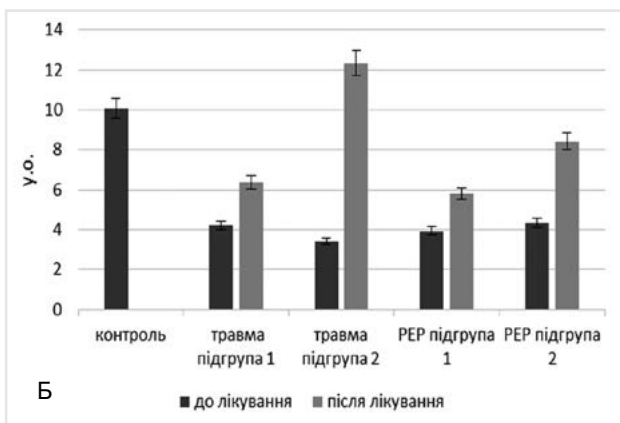
Примітка: n – кількість очей; M – середнє значення показника; SD – середнє квадратичне відхилення, p – рівень значущості різниці показників до та після лікування.



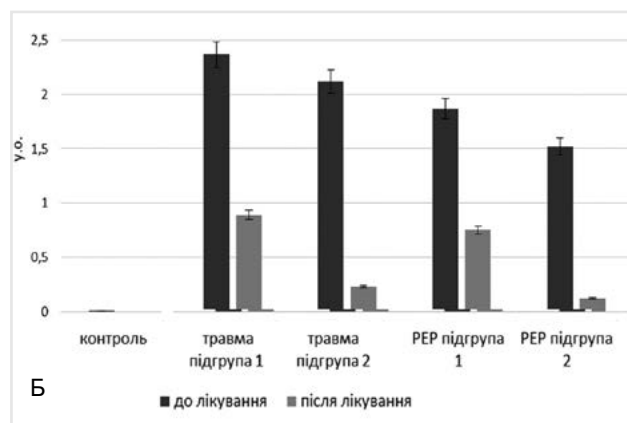
А



А



Б



Б

Рис. 1. Зміни рівня лактоферину в слізній рідині пацієнтів: А) приклад детекції лактоферину методом імуноблотингу-репрезентативні блотограми (1 – контроль (здорові добровольці), 2–4 – травматична ерозія рогівки; х – до лікування, у – третя доба, z – сьома доба); В) результати денситометричного аналізу лактоферину в слізній рідині пацієнтів із травмою рогівки та рецидивуючою ерозією рогівки ($p<0,05$)

Рис. 2. Зміни рівня церулоплазміну в слізній рідині пацієнтів: А) приклад детекції церулоплазміну методом імуноблотингу – репрезентативні блотограми (1 – контроль (здорові добровольці), 2–4 – травматична ерозія рогівки; х – до лікування, у – третя доба, z – сьома доба); В) результати денситометричного аналізу церулоплазміну в слізній рідині пацієнтів із травмою рогівки та рецидивуючою ерозією рогівки ($p<0,05$)

о., що на $2,62 \pm 0,46$ у. о. вище ($p < 0,05$). Період лікування пацієнтів із РЕР становив у першій підгрупі в середньому $9,25 \pm 0,94$ днів, а в другій підгрупі – $7,6 \pm 0,56$ днів ($p < 0,05$).

Методом імуноблотингу (рис. 2) показано, що в сльозовій рідині здорових добровольців ЦП міститься в слідових кількостях. Поява ЦП (основний поліпептид із мол. масою 150 кДа) у сльозі на ранніх етапах після травми свідчить про активацію гострого запального процесу, відповідно до лікування, становить $2,37 \pm 0,25$ у. о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У пацієнтів із РЕР спостерігається також підвищення рівня ЦП до лікування, що становить $1,78 \pm 0,2$ у. о. порівняно з контролем ($p < 0,05$).

У дослідженні в сльозі пацієнтів із травматичними та рецидивуючими ерозіями в разі застосування крапель ЛФ збільшується його рівень до рівня ЛФ у групі контролю, відповідно, зменшується рівень ЦП, що підтверджується зворотним кореляційним зв'язком між рівнем ЛФ і ЦП ($r = 0,491$), на рівні значимості $p < 0,001$.

Обговорення

Wilson і низка авторів виявили, що загоєння рани рогівки є складним патфізіологічним процесом, який складається з таких фаз, як клітинна міграція/запалення, клітинна проліферація/диференціація й ремоделювання матриксу [1, 3, 4, 17]. Хоча фаза запалення відіграє важливу роль для успішного загоєння ран рогівки, але хронічне запалення може призвести до зміни екстрацелюлярного матриксу, що в подальшому провокує рецидив ерозій [5, 7, 17].

За даними літератури, ЦП є реагентом гострої фази запалення й захищає тканини від пошкодження, викликаного вільними кисневими радикалами [9, 13]. ЦП людини є багатофункціональним білком, що містить іони міді й тим самим забезпечує велику кількість ферментативних взаємодій у вогнищі запалення. Ці властивості роблять ЦП ефективним антиоксидантом, здатним запобігати окислювальному пошкодженню білків, ДНК і ліпідів. Взаємодія ЦП з іншими білками ще більше розширює діапазон його функцій і відіграє ключову роль у більшості клітинних процесів (демонструє свою активність щодо NO-оксидази) [9, 13, 14].

У дослідженні різке збільшення ЦП в зразках сльози пацієнтів із травматичними ерозіями рогівки до лікування свідчить про стимуляцію запальних процесів після пошкодження, тоді як уміст ЦП в групі із застосуванням терапевтичних препаратів із ЛФ на кінцевому терміні спостереження статистично достовірно не перевищує цю величину в групі контролю. Отже, отримані нами результати підтверджують, що лактоферин прискорює резолюцію запалення в пошкодженному оці, і збігаються з дослідженнями низки авторів [10, 12, 13, 14].

Вестернблот аналіз виявив, що в сльозі пацієнтів із РЕР зафіксовано аналогічні зміни, характерні для гострого періоду травми, а саме: зниження рівня лактоферину й різке підвищення рівня церулоплазміну

порівняно з групою контролю. Отримані результати підтверджують дані досліджень, що в патогенезі РЕР вирішальну роль також відіграє індукція запалення й за умови хронічного процесу призводить до послаблення мережі позаклітинної адгезії та дисфункції напівдесмосом [6, 7, 8]. Зокрема, Thompson зі співавторами продемонстрували, що ЦП утворює комплекси з металопротеїназами й у разі порушення їх регуляції призводить до нещільного прикріплення епітеліальних клітин до базальної мембрани й утворення рецидиву ерозій [7, 18].

Відомо, що глікопротеїн ЛФ підтримує гомеостаз заліза, має широкую антимікробну, бактеріостатичну, противірусну й імуномодельюючу дію [10, 11, 19].

Імуноблот-аналіз зразків сльозової рідини здорових добровольців виявив, що вміст ЛФ – $10,3 \pm 0,4$ у. о., $p = 0,02$, що узгоджується з даними літератури [10, 11, 12, 21, 22]. Молекула ЛФ складається з двох гомологічних послідовностей, відомих як N- і C-частки, кожна з яких містить одну специфічну ділянку для зв'язування металу. Саме цим агентом є ЛФ, який може існувати у вигляді двох форм: апо- (залізонасичений білок) і холо-форми (містить Fe в активному центрі). ЛФ може захоплювати іони заліза (III), які утворюються під час фероксидазної реакції, що каталізується ЦП. Отже, окислення прооксидантних іонів двовалентного заліза, яке каталізується ЦП, має зменшити окислювальний стрес. У разі окислення ЦП хелатуючий агент зв'яже іони заліза [20]. У дослідженні показано зменшення рівня ЛФ при травматичних ерозіях рогівки й РЕР і збільшення рівня ЦП на початку захворювання, що збігається з дослідженнями, поданими в літературі, коли вивчали ці маркери в разі хронічного кератокон'юнктивіту й кератоконусу [9, 10, 11, 24].

Прогресування запалення супроводжується некрозом навколишніх тканин, що, у свою чергу, призводить до збільшення пулу двовалентного заліза. Активні форми кисню, такі як гідроксильні радикали, аніон-радикал супероксидаза, викликані запальним процесом, можуть реагувати з іонами-прооксидантами та сприяти окислювальному ушкодженню. Утворення комплексу ЦП-ЛФ посилює фероксидазну активність останнього, що сприяє захопленню іонів заліза. Ефективне поглинання заліза комплексом і його подальше виведення з вогнища запалення призводять до зниження концентрації заліза. Таким чином, комплекс ЦП-ЛФ у сльозі пацієнтів із травматичними пошкодженнями є механізмом захисту від нейтрофільного вибуху й захищає прилеглі тканини від подальшого пошкодження [18, 19].

Варто зазначити, що зі зв'язуванням і хелатуванням заліза також пов'язана антибактеріальна дія ЛФ, який конкурує з патогенними системами отримання заліза, що, у свою чергу, пригнічує зростання бактерій і мікроорганізмів. Найбільш очевидний механізм дії лактоферину полягає в тому, що він, зв'язуючи та поглинаючи залізо в навколишньому середовищі, позбав-

ляє субстрат живлення для бактерій і мікроорганізмів. Іншим механізмом, за допомогою якого ЛФ може проявляти свою антимікробну активність, є його пряме зв'язування з мікробами, що викликає дестабілізацію клітинних мембран широкого спектру бактерій [20, 21, 22]. Так як ЛФ відіграє важливу роль в активації імунних захисних механізмів, моделює імунну відповідь на проникнення вірусів і бактерій після травматичного пошкодження, зменшення його концентрації в сльозі призводить до зниження захисної функції сльози й порушення гомеостазу очної поверхні.

Застосування місцево очних крапель на основі ЛФ виявило зменшення рівня ЦП і підвищення ЛФ як у групі травматичних ерозій, так і в групі ПЕР. Біохімічні зміни в сльозі відповідали клінічній картині епітелізації рогівки, сприяли відновленню структури та прозорості рогівки, зменшенню суб'єктивних проявів рогівкового синдрому. Отримані результати збігаються з експериментальними дослідженнями щодо впливу ЛФ на епітелізацію рогівки й зменшення ознак запалення [10, 12, 14].

Заключення

1. Установлено, що в разі травматичної та рецидивуючої ерозії рогівки рівень лактоферину нижчий, ніж у здорових добровольців, на $6,36 \pm 0,05$ у. о. і $6,02 \pm 0,01$ у. о. відповідно, що призводить до порушення гомеостазу очної поверхні та порушення захисних механізмів сльозової плівки.

2. Виявлено зростання рівня церулоплазміну в разі травматичної ($2,37 \pm 0,25$ у. о.) і рецидивуючої ($1,78 \pm 0,2$ у. о.) ерозії рогівки, що є показником гострофазового запального процесу при цих захворюваннях.

3. Під час застосування в комплексному лікуванні травматичних і рецидивуючих ерозій рогівки лактоферину встановлено зворотний кореляційний зв'язок ($r = -0,491$, $p < 0,001$) між лактоферином (зниження) і церулоплазміном (підвищення), що свідчить про взаємодію цих протеїнів у комплексі під час запального процесу й епітелізації ран рогівки.

4. Застосування лактоферину в лікуванні травматичних і рецидивуючих ерозій рогівки дало змогу зменшити термін їх лікування на $1,6 \pm 0,16$ і $1,65 \pm 0,65$ днів відповідно.

Література

1. **Barrientes B, Nicholas SE, Whelchel A, Sharif R, Hjortdal J, Karamichos D.** Corneal injury: Clinical and molecular aspects. *Exp Eye Res.* 2019 Sep;186:107709.
2. **Willmann D, Fu L, Melanson SW.** Corneal Injury. 2023 Jul 17. In: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 29083785.
3. **Nuzzi A, PozzoGiuffrida F, Luccarelli S, Nucci P.** Corneal Epithelial Regeneration: Old and New Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 28;23(21):13114.
4. **Wilson SE, Torricelli AAM, Marino GK.** Corneal epithelial basement membrane: Structure, function, and regeneration. *Exp Eye Res.* 2020 May;194:108002.
5. **Miller DD, Hasan SA, Simmons NL, Stewart MW.** Recurrent corneal erosion: a comprehensive review. *Clin Ophthalmol.* 2019 Feb 11;13:325-335.
6. **Ren-Long Jan, Ming-Cheng Tai, Chung-Han Ho, Chin-Chen Chu, Jhi-Joung Wang, Sung-Huei Tseng, et al.** Risk of recurrent corneal erosion in patients with diabetes mellitus in Taiwan: a population-based cohort study *BMJ Open.* 2020;10:e035933.
7. **Paley GL, Wagoner MD, Afshari NA, Pineda R, Huang AJW, Kenyon KR.** Corneal Wound Healing, Recurrent Corneal Erosions, and Persistent Epithelial Defects. In: Albert DM, Miller JW, Azar, DT, Young LH. (eds) *Albert and Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology.* Springer, 2022. Cham.
8. **Zhan X, Li J, Guo Y, et al.** Mass spectrometry analysis of human tear fluid biomarkers specific for ocular and systemic diseases in the context of 3P medicine. *EPMA Journal.* 2021; 12: 449–475.
9. **Liu Z, Wang M, Zhang C, Zhou S, Ji G.** Molecular Functions of Ceruloplasmin in Metabolic Disease Pathology. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2022 Mar 3;15:695-711.
10. **Wang B, Timilsena YP, Blanch E, Adhikari B.** Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(4):580-596.
11. **Дрожжина ГІ, Рязанова ЛЮ, Храменко НІ, Величко ЛМ.** Рівень лактоферину в сльозі хворих на хронічний кон'юнктивіт та вплив очних крапель «Лакто» в комплексному лікуванні цієї патології. *Офтальмолог. журн.* 2023; 1: 39-46.
12. **Vagge A, Senni C, Bernabei F, Pellegrini M, Scordia V, Traverso CE, Giannaccare G.** Therapeutic Effects of Lactoferrin in Ocular Diseases: From Dry Eye Disease to Infections. *Int J MolSci.* 2020 Sep 12;21(18):6668.
13. **Orzheshkovskiy VV, Trishchynska MA.** Ceruloplasmin: Its Role in the Physiological and Pathological Processes. *Neurophysiology* 51, 141–149 (2019).
14. **Bonaccorsidi Patti MC, Cutone A, Polticelli F, Rosa L, Lepanto MS, Valenti P, Musci G.** The ferroportin-ceruloplasmin system and the mammalian iron homeostasis machine: regulatory pathways and the role of lactoferrin. *Biometals.* 2018 Jun;31(3):399-414.
15. **Tykhomyrov A, Yusova O, Kapustianenko L, Bilous V, Drobotko T, Gavryliak I, et al.** Production of anti-lactoferrin antibodies and their application in the analysis of the tear fluid. *Biotech. Acta.* 2022; 15(5):31-40.
16. **Zeitler AF, Gerrer KH, Haas R, Jiménez-Soto LF.** Optimized semi-quantitative blot analysis in infection assays using the Stain-Free technology. *J Microbiol Methods.* 2016 Jul;126:38-41.
17. **Wilson SE.** Corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2020 Aug;197:108089.
18. **Thompson MW.** Regulation of zinc-dependent enzymes by metal carrier proteins. *Biometals.* 2022 Apr;35(2):187-213.
19. **Kell DB, Heyden EL, Pretorius E.** The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria. *Front Immunol.* 2020 May 28;11:1221.
20. **Дрожжина ГІ, Велисар ТА.** Невидимий захисник очей – лактоферин. *Офтальмологія. Український журнал.* 2021; 1 (12): 73-85
21. **Ohradanova-Repic A, Praženicová R, Gebetsberger L, Moskalets T, Skrabana R, Cehlar O, et al.** Time to Kill and Time to Heal: The Multifaceted Role of Lactoferrin

- and Lactoferricin Host Defense. *Pharmaceutics*. 2023 Mar 24;15(4):1056.
22. **Regueiro U, López-López M, Varela-Fernández R, Sobrino T, Diez-Feijoo E, Lema I.** Immunomodulatory Effect of Human Lactoferrin on Toll-like Receptors 2 Expression as Therapeutic Approach for Keratoconus. *Int J MolSci*. 2022 Oct 15;23(20):12350.
23. **Higuchi A, Inoue H, Kaneko, Y. et al.** Selenium-binding lactoferrin is taken into corneal epithelial cells by a receptor and prevents corneal damage in dry eye model animals. *SciRep*. 2016; 6: 36903.
24. **Burcel, MirunaGabriela, et al.** Levels of lactoferrin, lysozyme and albumin in the tear film of keratoconus patients and their correlations with important parameters of the disease. *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2020; 28:2.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Автор листування: Гавриляк Ірина Василівна – irengavriliak19@gmail.com

Внесок кожного автора в роботу: Усі автори брали участь у розробленні концепції статті й написанні рукопису. Остаточна версія рукопису ухвалена всіма авторами, які, у свою чергу, несуть повну відповідальність за надання її остаточної версії до друку.

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

Учасники дослідження. Дослідження проводили за участі людей. Це дослідження схвалено місцевим комітетом з біоетики. У всіх пацієнтів, які брали участь у дослідженні, отримано форми інформованої згоди. Дослідження проведено згідно з положеннями Гельсінської декларації.

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.

Абревіатури. ЛФ – лактоферин, ЦП – церулоплазмін, у. о. – умовні одиниці, РЕР – рецидивуюча ерозія рогівки.

Надійшла 13.09.2023