

УДК 617.721.6-002-074/-078

Храменко Н.И., Величко Л.Н., Богданова А.В., Дрожжина Г.И.

УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ АДРЕНАЛИНОВОЙ И АЦЕТИЛХОЛИНОВОЙ РЕЦЕПЦИИ НА Т-ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ СТРОМАЛЬНЫМ ГЕРПЕТИЧЕСКИМ КЕРАТИТОМ

*ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины»,
Одесса, Французский б-р 49/51*

РЕЗЮМЕ

Цель – оценка уровня абсолютного и относительного количества Т-лимфоцитов периферической крови с экспрессией адreno- и ацетилхолинорецепторов в разные периоды течения рецидивирующего стромального герпетического кератита (СГК) и определение взаимовлияния с цитокинами TNF, И 6, И 10, И 4 и субпопуляциями лимфоцитов с молекулярными маркерами CD5, CD 54, CD 25, CD 95 у этих больных.

Материал и методы

Обследованы 96 пациентов с рецидивирующим СГК и 16 здоровых волонтеров аналогичного возраста. Субпопуляции лимфоцитов и молекулярных маркеров активации лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител гистоиммуноцитохимическим методом. Концентрацию И-4, L-6, L-10 и TNF-α в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты

Уровень экспрессии адрено-/ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах периферической крови в период ремиссии/рецидива рецидивирующего СГК выше, чем в группе контроля на 30,1%/53,8% - 84%/97,2% соответственно. При исходе рецидива и в период ремиссии СГК уровень адренорецепции/ацетилхолиновой рецепции был ниже на 20,6%/ 16,6%, чем при рецидиве. Выявлена прямая связь экспрессии адрено-/ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах с показателями клеточного иммунитета, субпопуляциями лимфоцитов с молекулярными маркерами CD5, CD 54, CD 25, CD 95 и уровнем TNF-α у пациентов СГК.

Заключение

Уровень экспрессии рецепторов к адреналину и ацетилхолину на Т-лимфоцитах периферической крови больных СГК в комплексе с другими показателями воспаления может являться неспецифическим биомаркером рецидива.

Ключевые слова: *стромальный герпетический кератит, адреналин, ацетилхолин, молекулярные маркеры, цитокины*

Xramenko N.I., Veličko L.N., Boqdanova A.V., Drojjina Q.I.

TEKRARLANAN STROMAL HERPETİK KERATİTİ OLAN XƏSTƏLƏRDƏ PERİFERİK QAN T-LİMFOSİTLƏRİNDƏ ADRENALİN VƏ ASETİLXOLİNİN QƏBUL EDİLMƏSİ SƏVİYYƏLƏRİ

XÜLASƏ

Məqsəd – residiv verən stromal herpetik keratitin (SHK) gedişatının müxtəlif dövrlərində adreno- və asetilxolinoreseptorlar ilə periferik qan T-limfositlərinin mütləq və nisbi sayının səviyyəsini qiymətləndirmək və TNF, Il 6, Il 10, Il 4 sitokinləri ilə və bu xəstələrdə CD5, CD 54, CD 25, CD 95 molekulyar markerlərlə limfositlərin subpopulyasiyalarının qarşılıqlı əlaqəsini müəyyən etmək.

Material və metodlar

Residiv verən SHK olan 96 xəstə və eyni yaşda olan 16 sağlam könüllü müayinə edilmişdir. Histoimmunositokimyəvi üsulla monoklonal anticisimlər vasitəsilə limfositlərin subpopulyasiyaları və limfositlərin aktivasiyası molekulyar markerləri müəyyən edilmişdir. Qan zərdabında IL-4, L-6, L-10 və TNF- α konsentrasiyası sərt fazalı immunoferment analizi ilə müəyyən edilmişdir.

Nəticə

Residiv verən SHK-nin remissiya/residivi zamanı periferik qan T-limfositlərində adreno-/asetilxolin resepsiyasının ekspressiya səviyyəsi nəzarət qrupuna nisbətən xeyli yüksəkdir (müvafiq olaraq 30,1%/53,8% - 84%/97,2%). Residiv nəticəsində və SHK-nin remissiyası zamanı adreno-reseptiv/asetilxolin resepsiyasının səviyyəsi residivlə müqayisədə 20,6%/16,6% aşağı olmuşdur. SHK xəstələrində T-limfositlərində adreno-/asetilxolin resepsiyasının ekspressiyası və hüceyrə immuniteti göstəriciləri, CD5, CD 54, CD 25, CD 95 molekulyar markerləri, limfositlərin subpopulyasiyaları və TNF- α səviyyəsi ilə birbaşa əlaqəsi aşkar edilmişdir.

Yekun

SHK olan xəstələrin periferik qanının T-limfositlərində adrenalin və asetilxolin reseptorlarının ekspressiyası səviyyəsi iltihabın digər göstəriciləri ilə birləşdirilən qeyri-spesifik biomarkerinin olması ehtimal edilir.

Açar sözlər: *stromal herpetik keratit, adrenalin, asetilkolin, molekulyar markerlər, sitokinlər*

Khramenko N.I., Velychko L.N., Bogdanova A.V., Drozhzhina G.I.

EXPRESSION LEVELS OF ADRENALINE RECEPTION AND ACETYLCHOLINE RECEPTION ON PERIPHERAL BLOOD T-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH RECURRENT STROMALE HERPETIC KERATITIS

SUMMARY

Purpose – to assess the level of the absolute and relative number of peripheral blood T-lymphocytes with the expression of adreno- and acetylcholinoreceptors in different periods of the course of recurrent stromal herpetic keratitis (SHK) and to determine the interaction with the TNF, Il 6, Il 10, Il 4 cytokines and subpopulations of lymphocytes with molecular markers of CD5, CD 54, CD 25, CD 95 in these patients

Material and methods

96 patients with recurrent SHK and 16 healthy volunteers of the same age were examined. Determination of subpopulations of lymphocytes and molecular markers of lymphocyte activation was performed using monoclonal antibodies by histoimmunocytochemical method. The concentration of IL-4, L-6, L-10 and TNF- α interleukins in blood serum was determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results

The expression level of adreno-/acetylcholine receptors on peripheral blood T-lymphocytes during remission/relapse of recurrent SHK is significantly higher than in the control group on 30.1%/53.8% - 84%/97.2%, respectively. At the outcome of relapse and the remission of SHK, the level of adrenoreception/acetylcholine reception was lower by 20.6%/16.6% than at relapse. A direct correlation was found between the expression of adrenoreception/acetylcholine reception and cellular immunity, subpopulations of lymphocytes with molecular markers CD5, CD 54, CD 25, CD 95 and the level of the cytokine TNF- α in SHK patients.

Conclusion

The level of expression of adrenaline- and acetylcholine receptors on T-lymphocytes of peripheral blood in combination with other indicators of inflammation may be a non-specific biomarker of relapse of SHK.

Key words: *stromal herpetic keratitis, adrenaline, acetylcholine, molecular markers, cytokines*

Стромальный герпетический кератит (СГК) является иммуномодулированным заболеванием, возникающим в результате хронической реактивации вируса простого герпеса (ВПГ 1 и 2 типа) [1]. Клинические признаки СГК включают отек стромы и нарушение ее прозрачности, иридоциклит, нарушение функции эндотелия, вызываемые реактивацией ВПГ, внедрением его в роговицу и иммунно-опосредованной реакцией тканей роговицы на вирусный антиген. Мощный иммунный ответ на вирусные белки приводит к инфильтрации лейкоцитов, повреждению стромы роговицы и эндотелия, которые в совокупности способствуют помутнению роговицы и ее отеку [2]. СГК – наиболее частая форма поражения роговицы при рецидиве ГК -в 20-50% случаев, которая наиболее часто приводит к значительному снижению зрения. В случаях затяжного течения и многократных рецидивов СГК развивается неоваскуляризация роговицы. Тяжесть и длительность стромального кератита зависят в основном от количества и локализации герпетического антигена в роговице, а также от активности Т-клеточного иммунитета [1]. По данным современной литературы известно, что при наличии СГК часто наблюдается несоответствие между клиническим состоянием глаза, которое наблюдает офтальмолог и реальным уровнем воспаления, которое в частности фиксируют по результатам патоморфологического исследования диска роговицы при кератопластике. В этом случае при отсутствии клинических признаков рецидива могут выявляться признаки воспаления патоморфологическими методами. По данным разных авторов это несоответствие проявляется в 1/3 клинически неактивных помутнений роговицы [3,4].

Важной задачей современной клинической офтальмологии является поиск биомаркеров, которые могут помочь спрогнозировать характер течения воспалительного процесса, в частности, возможность хронизации и рецидивирования процесса, вероятность появления осложнений.

В настоящее время имеется представление об иммунорегуляторной функции нервной системы. В частности, периферическая нервная система через нейротрансмиттеры и нейропептиды работает параллельно с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гонадной системами, модулируя воспалительные процессы и поддерживая гомеостаз организма. ЦНС и иммунная система являются основными адаптивными системами, участвующими в непрерывном и функциональном взаимодействии для обеспечения гомеостаза.

И врожденная, и адаптивная иммунная система контролируются симпатической нервной системой (СНС), передающей сигналы через адренергические рецепторы. При любом антигенном поражении провоспалительные цитокины повышают активность СНС, что приводит к повышению

уровня норадреналина, регулирующего иммунные клетки для действия в области-мишени. Имеются многочисленные данные, свидетельствующие об экспрессии различных адренергических рецепторов как в первичных, так и во вторичных лимфоидных органах [5].

Катехоламины, такие как норадреналин, адреналин, действуют как нейротрансмиттеры в симпатико-адренергических окончаниях вегетативной нервной системы, иннервирующей первичные и вторичные лимфоидные органы, в дополнение к прямому локальному воздействию, обусловленному их секрецией вне синапсов [6,7]. Таким образом, вегетативная нервная система имеет прямую связь с иммунными клетками анатомически, и, кроме того, иммунные клетки имеют рецепторы для нейротрансмиттеров вегетативной нервной системы [8].

В настоящее время доказано, что все лимфоциты имеют адренергические рецепторы, отличающиеся разной плотностью и чувствительностью, что определяет различную реакцию клеток разных клеточных субпопуляций [9]. Было показано, что CD4 и CD8 T-клетки экспрессируют разные адренергические рецепторы ($\alpha 1$, $\alpha 2$, β) [10]. Активация $\beta 2$ -адренорецептора в CD4 + T-клетках в присутствии ИЛ-12 приводит к повышенной секреции ИФН- γ [11].

Сами лимфоциты могут синтезировать катехоламины (КА), эта способность усиливается у активированных лимфоцитов [12,13]. Т-лимфоциты обладают клеточным механизмом как для синтеза, так и для деградации нейротрансмиттеров, что предполагает способность этих клеток передавать как аутокринные, так и паракринные сигналы независимо от нервной системы [8]. Катехоламины, синтезируемые лимфоцитами, могут секретироваться из лимфоцитов паракринным или аутокринным путем и влиять на функцию лимфоцитов с помощью механизма опосредования адренорецепторов и цАМФ. [14].

В настоящее время появляется все больше исследований по изучению одной из цепей воспалительного рефлекса, состоящего из афферентных и эфферентных нейронов, проходящих по блуждающему нерву для регуляции иммунитета. Лимфоциты экспрессируют большинство холинергических компонентов нервной системы, включая ацетилхолин (АХ), холин-ацетилтрансферазу (ХАТ), мускариновые и никотиновые рецепторы АХ (mAChR и nAChR соответственно) и ацетилхолин. В периферических тканях никотиновый ацетилхолиновый рецептор ($\alpha 7$ nAChR) важен для передачи противовоспалительных сигналов в эфферентном плече воспалительного рефлекса [15,16].

Ацетилхолин (АХ), происходящий из Т-клеток, широко изучается как нейротрансмиттер, который играет важную роль в регуляции иммунитета. При воспалении лимфоциты экспрессируют холин-ацетилтрансферазу и продуцируют ацетилхолин, который стимулирует вазодилатацию, что имеет решающее значение для иммунных реакций и является одним из признаков воспаления, а также облегчает проникновение иммунных клеток в инфицированные ткани [17,18].

Нейропептиды и нейротрансмиттеры играют важную роль в иммунной функции и хроническом воспалении из-за их хемоаттрактивной способности. Многочисленные исследования продемонстрировали ключевую роль симпатической нервной системы и ее нейротрансмиттеров в регуляции хронических воспалительных состояний [19]. Так, в настоящее время освещается роль нейроконтроля иммунного ответа, обеспечивающего его скорость, специфичность и направленность, а также роль адренергической и холинергической регуляции иммунного ответа при воспалительном процессе, функции основных нейротрансмиттеров и клеточную рецепцию к ним, способные регулировать миграцию, пролиферацию, дифференцировку и кооперацию иммунокомпетентных клеток. В контексте вышеизложенного одним из диагностически значимых биомаркеров воспаления может быть уровень экспрессии рецепторов к адреналину и ацетилхолину на Т-клетках периферической крови больных рецидивирующим герпетическим

кератитом, который в комплексе с другими показателями поможет спрогнозировать активацию воспалительных реакций. При воспалительной патологии в офтальмологии данный вопрос освещен в единичных работах [20].

В основу работы поставлена задача изучения патогенеза СГК и усовершенствования способа диагностики активации воспаления, что особенно важно при клинически стертых формах рецидивирующего стромального герпетического кератита, путем определения уровня экспрессии адрено- и ацетил-холинорецепции на лимфоцитах крови, для своевременной противовоспалительной терапии.

Цель – оценка уровня абсолютного и относительного количества Т-лимфоцитов периферической крови с экспрессией адрено- и ацетилхолинорецепторов в разные периоды течения рецидивирующего стромального герпетического кератита и определение взаимовлияния с цитокинами TNF, И 6, И 10, И 4 и субпопуляциями лимфоцитов с молекулярными маркерами CD5, CD 54, CD 25, CD 95 у этих больных.

Материал и методы

Обследование на базе отделения патологии роговицы и лаборатории иммунологии ГУ «Институт глазных заболеваний и тканевой терапии им.В.П.Филатова НАМН Украины» проведено 96 пациентам с рецидивирующим стромальным герпетическим кератитом в разные периоды болезни: рецидива – 37 человек, рецидива с затяжным течением (свыше 3 месяцев) – 14 человек, исходом рецидива- 11 человек и ремиссии -34 человека. Возраст пациентов был равен $41,6 \pm 1,5$ лет. Контрольную группу составляли 16 здоровых волонтеров аналогичного возраста.

В работе были предусмотрены меры по обеспечению безопасности и здоровья пациентов, соблюдение их прав, человеческого достоинства и морально-нравственных норм в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации прав человека, Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине и соответствующих законов Украины. Письменное информированное согласие было получено от каждого участника после подробного объяснения характера исследования. Всем пациентам проводилась визометрия, измерение ВГД, офтальмоскопия, биомикроскопия, периметрия, исследование электрической чувствительности и лабильности зрительного нерва по фосфену. Реоофтальмографию (РОГ) проводили с использованием компьютерного реографического комплекса "Реоком" (Украина, г.Харьков), принципом работы которого является импедансометрия. При анализе РОГ рассматривали показатели объемного пульсового кровенаполнения по реографическому коэффициенту RQ(%), тонические свойства сосудов по показателю α/T (%).

Определение субпопуляций лимфоцитов и молекулярных маркеров активации лимфоцитов проводили с помощью моноклональных антител гистоиммуноцитохимическим методом. Забор крови производили из локтевой вены одноразовой вакуумной системой, 4-5 мл гепаринизированной крови разбавляли 0,9% раствором NaCl в 2 раза. Микроскопия - при увеличении объектива х 80, окуляра х 15. Клетки, содержащие антиген, который связывается с пероксидазой хрена, имеют по краю цитоплазмы темный ободок коричневого цвета. Для оценки специфической чувствительности лимфоцитов к адреналину и ацетилхолину использовали комплексную методику оценки индивидуальной чувствительности организма к препаратам, разработанную в лаборатории иммунологии ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.В.П.Филатова НАМН Украины» с помощью метода параллельных проб [21,22]. Она заключается в получении лимфоцитарной суспензии путем центрифугирования (раствор фикола плотностью 1,076 г/см³) и двукратной очистки клеток; параллельная инкубация в течение 1 ч при 37°C в

иммунологическом планшете: 1) 0,05 мл клеточной суспензии лимфоцитов и 0,05 мл физраствора; 2) 0,05 мл клеточной суспензии лимфоцитов и 0,05 мл 0,18% раствора адреналина (для разведения использовался готовый стерильный раствор, производитель – Дарница, Украина); 3) 0,05 мл клеточной суспензии лимфоцитов и 0,05 мл 0,1% раствора ацетилхолина хлорида (производитель НПФ Синбиас, Украина) (сухое вещество разбавляли готовым физраствором). Концентрация используемых растворов препаратов была разработана предыдущими исследователями [21,22]. Далее использовалась стандартная иммуногистохимическая методика определения Т-лимфоцитов (CD 3) с использованием моноклональных антител. При учете результатов определяли количество CD3 в опытных пробах (с адреналином и ацетилхолином) и количество CD3 в контрольных образцах (с физраствором). Исследовали молекулярные маркеры активации лимфоцитов с помощью моноклональных антител крови иммуноцитохимическим методом. Определяли абсолютный и относительный уровень экспрессии маркера межклеточных молекул адгезии ICAM-1 (CD-54), CD 25, CD5 и CD95 на лимфоцитах периферической крови.

CD-54 является гликопротеином клеточной поверхности с молекулярной массой 60-114 кДа, состоит из 5 Ig-подобных доменов, относящегося к суперсемейству Ig. ICAM-1 (CD-54) экспрессируется на иммунных, эндотелиальных и эпителиальных клетках, индуцируется различными воспалительными цитокинами (интерлейкином-1-бета (IL-1 β), интерфероном гамма (IFN γ) или фактором некроза опухоли (TNF α), служит как молекула адгезии и сигнального рецептора во многих типах клеток, чтобы вызвать воспалительные реакции, инициировать разрешение воспаления и заживления. **CD25** - рецептор из суперсемейства белковых рецепторов с молекулярной массой 55 кДа, представляет собой (альфа) субъединицу рецептора интерлейкина-2 (IL-2R α). Он экспрессируется в развивающихся и активированных Т-лимфоцитах, активированных В-лимфоцитах, НКТ-клетках, моноцитах, макрофагах. Его биологическое значение состоит в регуляции пролиферации и дифференцировки; поддержка клонального баланса лимфоцитов; предотвращение чрезмерной активации иммунного ответа. Изменения его выражения возникают при воспалительных процессах любой этиологии. Является ранним маркером активации лимфоцитов, отражает их способность к пролиферации и дифференцированию. Рецептор **CD-5** является суперсемейством белковых рецепторов, экспрессируемых на Т- и В-лимфоцитах. CD-5 играет роль ключевого иммуномодулятора как при гомеостатических, так и при воспалительных состояниях и считается маркером аутоиммунной агрессии. CD5 регулирует генерацию, активность и выживаемость клеток Treg и Breg. **CD-95** - антиген (Fas/APO-1) с молекулярной массой 45 кДа, являющийся трансмембранной молекулой, относится к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО), имеет высокий уровень экспрессии на активированных Т- и В-клетках, участвует в индукции апоптоза. Экспрессия маркера активируется при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях, старении.

Определение цитокинов в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуоферментного анализа с использованием наборов реагентов для количественного определения концентрации интерлейкинов IL- 4, L-6, L-10 и фактора некроза опухоли-а (TNF- α) в биологических жидкостях человека (производитель - ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) согласно прилагаемой инструкции. Оценку результатов осуществляли фотометрически (микропланшетный иммуоферментный анализатор «StatFax 2100», США). Использовали референтные значения нормы, приведенные в инструкции для данных реагентов.

Статистическая обработка производилась с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации, визуализация полученных результатов и статистический анализ проводились в электронных таблицах с использованием программы STATISTICA 8.0 (StatSoft.Inc). Количественные показатели оценивались по соответствию нормальному распределению, при этом использовался критерий

Колмогорова-Смирнова. Полученные данные при нормальном распределении объединялись в вариационные ряды, в которых производился расчет средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), пределов 95% доверительного интервала (95% ДИ). При сравнении средних величин нормально распределенных совокупностей рассчитывался t-критерий Стьюдента. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались с помощью значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Для их сравнения использовался U-критерий Манна-Уитни. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Силу корреляционных связей исследовали по коэффициенту Спирмена и Пирсона. Для определения значимости отличий двух коэффициентов корреляции использовали калькулятор сравнения двух коэффициентов корреляции в программе STATISTICA 8.0.

Результаты и их обсуждение

У пациентов с рецидивирующим стромальным герпетическим кератитом в период рецидива абсолютное количество Т-клеток с адренорецепцией (клеток /мл) по медиане Me равно 224 клеток /мл с межквартильным интервалом нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). 163-361 клеток /мл. Это значимо выше, чем в контроле, где было 129 клеток /мл (106-199 клеток /мл) ($p = 0,0008$), а также имелась тенденция к более высоким показателям, чем в ремиссии-190 клеток /мл (128-302 клеток /мл) ($p = 0,1$) (таб.1).

Относительный уровень адренорецепции на лимфоцитах периферической крови в период рецидива был равен $14,4 \pm 4,5\%$. Надо отметить, что 95% значений этого показателя у этих больных находилось в интервале 12,9%-16,0%, что отражает доверительный интервал (95%) показателя уровня адренорецепции. У данных больных при исходе рецидива и ремиссии этот показатель был на 20,6% ($p = 0,001$) ниже, равняясь $10,5 \pm 3,6\%$ при доверительном интервале 9,1%-13,1% (таб.1). Таким образом, если цифровые значения относительного уровня адренорецепции выше 13,1%, то это может свидетельствовать об активации воспаления – рецидиве. Следует отметить, что в период рецидива данный показатель почти в 2 раза выше нормы (на 97,2% ($p < 0,05$)), а в период ремиссии остается высоким на 30,1% ($p < 0,05$).

У пациентов с рецидивирующим стромальным герпетическим кератитом в период рецидива уровень ацетилхолинорецепции на лимфоцитах периферической крови по абсолютному показателю был равен 224 клеткам/мл с межквартильным размахом (163-361) клеток/мл, что было выше нормы на 84% ($p < 0,05$). При исходе рецидива и ремиссии проявилась четкая тенденция к значительному уменьшению значений до 146-190 клеток /мл (таб.2). Относительные значения данного показателя имели меньшую вариабельность и равнялись $14,4 \pm 3,7\%$ (таб.2). Значение этого показателя у этих больных в 95% случаев находилось в интервале 13,1-15,8%. При исходе рецидива и ремиссии этот показатель был на 16,6% ($p = 0,003$) ниже и равнялся $12,0 \pm 3,6\%$ при доверительном интервале 9,8%-13,0% (таб.2). Таким образом, значение относительного показателя ацетилхолиновой рецепции выше 13,1% может указывать об активации воспаления. В норме этот показатель был равен $7,8 \pm 1,9\%$ с интервалом варьирования значений 6,0%-9,4%. При рецидиве этот показатель выше на 84% ($p < 0,05$), при ремиссии – выше на 53,8% ($p < 0,05$).

Резюмируя выше сказанное, отметим, что уровень экспрессии адренорецепции / ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах периферической крови в период ремиссии/рецидива рецидивирующего СГК значимо выше, чем в группе контроля на 30,1% / 53,8%- 84%/97,2% соответственно. А при значении относительного показателя адренорецепции и ацетилхолиновой

рецепции на Т-лимфоцитах периферической крови выше 13% или повышении этого показателя на 20% от исходных данных при ремиссии можно диагностировать активацию воспалительного процесса при стертых формах СГК.

Таблица 1

Показатели уровня чувствительности Т-клеток периферической крови к адреналину у пациентов с рецидивирующим стромальным герпетическим кератитом в разные периоды заболевания

Течение рецидивирующего герпетического кератита	группа	N (пациенты)	Уровень адренорецепции	
			(клеток/мл)	%
			Me Q ₁ -Q _{up}	M±SD (ДИ 95%)
Рецидив	1	37	224 163-361	14,4±4,5 (12,9-16,0)
Затяжное течение рецидива	2	14	307 259-408	13,7±4,8 (11,0-16,5)
Исход рецидива	3	11	146 92-330	10,0±4,6 (6,8-13,1)
Ремиссия	4	31	190 (128-302)	10,5±3,6 (9,1-11,8)
контроль	5	16	115 (86-203)	7,3±2,9 (5,4-9,2)
Уровень значимости различий между группами			$p_{1-2}=0,6$ $p_{1-3}=0,1$ $p_{1-4}=0,1$ $p_{1-5}=0,0008$ $P_{2-3}=0,1$ $P_{2-4}=0,1$ $P_{2-5}=0,004$ $P_{3-4}=0,9$ $P_{3-5}=0,04$ $P_{4-5}=0,001$	$P_{1-2}=0,3$ $P_{1-3}=0,003$ $P_{1-4}=0,001$ $P_{1-5}=0,002$ $P_{2-3}=0,03$ $P_{2-4}=0,008$ $P_{2-5}=0,004$ $P_{3-4}=0,9$ $P_{3-5}=0,04$ $P_{4-5}=0,001$

Примечание: Me- медиана , Q₁-Q_{up} – верхний и нижний квартиль (25%-75%) ДИ 95%- доверительный интервал 95%, M- среднее арифметическое, SD- стандартное отклонение

При рассмотрении взаимовлияния адрен- и ацетихолиновой рецепции на Т-лимфоцитах с иммунокомпетентными клетками выявлены положительные корреляционные связи разной силы с такими их типами, как CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (таб.3). При сравнении коэффициентов корреляции определено, что наиболее сильная прямая связь адрен- и ацетихолиновой рецепции была с CD 4 (хелперами), где коэффициенты корреляции равнялись $r=0,74$ и $r=0,89$ соответственно, причем коэффициенты корреляции с ацетилхолиновой рецепцией выше ($p=0,00$), чем при адреналиновой рецепции. Коэффициенты корреляции с CD 8 (супрессоры/цитотоксичные) были значимо ниже $p=0,0008$ и $p=0,003$, а также ниже как и с CD 19 (В-лимфоциты) $p=0,003$ и $p=0,003$ и с CD 16 (натуральне киллеры) $p=0,01$ и $p=0,001$ соответственно.

Таблица 2

Показатели уровня чувствительности Т-клеток периферической крови к ацетилхолину у пациентов с рецидивирующим стромальным герпетическим кератитом в разные периоды заболевания

Течение рецидивирующего герпетического кератита	группа	N (пациенты)	Уровень ацетилхолинорецепции	
			(клеток/мл)	%
			Me Q1-Qup	M±SD
Рецидив	1	37	244 161-348	14,4±3,7 (13,1-15,8)
Затяжное течение рецидива	2	14	298 208-428	13,6±5,6 (9,6-17,8)
Исход рецидива	3	11	160 128-184	12,0±4,2 (6,7-17,2)
Ремиссия	4	34	190 (128-302)	12,0±3,6 (9,8-13,0)
контроль	5	16	129 (106-199)	7,8±1,9 (6,0-9,4)
Уровень значимости различий между группами			$p_{1-2}=0,6$ $p_{1-3}=0,06$ $p_{1-4}=0,1$ $p_{1-5}=0,008$ $p_{2-3}=0,08$ $p_{2-4}=0,1$ $p_{2-5}=0,04$ $p_{3-4}=0,3$ $p_{3-5}=0,5$	$p_{1-2}=0,3$ $p_{1-3}=0,04$ $p_{1-4}=0,003$ $p_{1-5}=0,000$ $p_{2-3}=0,2$ $p_{2-4}=0,08$ $p_{2-5}=0,001$ $p_{3-4}=0,9$ $p_{3-5}=0,002$ $p_{4-5}=0,3$

Примечание: Me- медиана , Q1-Qup – верхний и нижний квартиль (25%-75%) ДИ 95%-доверительный интервал 95%, M- среднее арифметическое, SD- стандартное отклонение

Таким образом, активация адрен- и ацетихолиновой рецепции на Т-лимфоцитах способствует активации клеточного иммунитета и в первую очередь активации клеток хелперов, которые первыми атакуют инфекцию, но также способствует активации супрессоров, натуральных киллеров. Выявлена также прямая связь адрен- и ацетихолиновой рецепции на Т-лимфоцитах с показателями гуморального иммунитета и в большей степени с В-лимфоцитами ($r=0,56$). Прямая связь слабой силы с IgA $r=0,21$ и IgG $r=0,18$ определялась только с адренорецепцией (таб.4).

Таблица 3

Распределение значимых ($p<0,05$) корреляционных связей между количеством иммунокомпетентных клеток и количеством Т-лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих рецепцию к адреналину и ацетилхолину у пациентов СГК (N=112)

Тип иммунокомпетентных клеток (клетки/мл)	Уровень адренорецепции (клетки/мл)	Уровень ацетилхолинорецепции (клетки/мл)
CD 3	$r=0,33$	$r=0,37$
CD 4	$r=0,74$	$r=0,89$
CD 8	$r=0,52$	$r=0,72$
CD 16	$r=0,59$	$r=0,56$
CD 4/8	-	$r=0,36$

Примечание: r- коэффициент корреляции (по Спирмену)

Таблица 4

Распределение значимых ($p<0,05$) корреляционных связей между показателями гуморального иммунитета и количеством Т-лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих рецепцию к адреналину и ацетилхолину у пациентов С Г К (N=96)

Показатели гуморального иммунитета	Уровень адренорецепции		Уровень ацетилхолинорецепции	
	клетки /мл	%	клетки/мл	%
CD 19	r=0,56	0,19	r=0,56	-
Ig A	r=0,21	r=0,16	-	-
IgM	-	-	-	-
IgG	-	r=0,18	-	-

Примечание: r- коэффициент корреляции ((по Спирмену)

Выявлены также прямые корреляционные связи с количеством лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих рецепцию к адреналину и ацетилхолину и субпопуляций лимфоцитов с молекулярными маркерами CD 5, CD 54, CD 25 и CD 95 у пациентов С Г К. Наиболее сильные корреляционные связи определялись с CD 54, CD 25 и CD 95 ($p=0,01$ и $p=0,03$) (таб.5).

Таблица 5

Наличие значимых ($p<0,05$) корреляционных связей между абсолютным уровнем лимфоцитов периферической крови с молекулярными маркерами ICAM-1 (CD 54), CD 25, CD 5 и CD 95 и абсолютным уровнем Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепцию к адреналину и ацетилхолину у пациентов СГК (N=112)

Биомаркеры субпопуляций лимфоцитов (клетки /мл)	Уровень адренорецепции (клетки /мл)	Уровень ацетилхолинорецепции (клетки /мл)
CD 5	r=0,48	r=0,56
CD 54	r=0,87	r=0,87
CD25	r=0,9	r=0,7
CD95	r=0,9	r=0,8

Примечание: r- коэффициент корреляции (по Спирмену)

Выявлена прямая связь уровня концентрации в сыворотке крови фактора некроза опухоли (TNF- α) и уровня экспрессии ацетилхолиновых рецепторов ($r=0,43$, $p<0,05$; $n=23$). Таких связей не обнаружено с уровнем концентрации в сыворотке крови интерлейкинов II 6, II 10, II 4 ($n=23$). Таким образом, повышение уровня концентрации в сыворотке крови провоспалительного цитокина TNF- α влечет за собой повышение уровня экспрессии ацетилхолиновых рецепторов на Т-лимфоцитах при СГК.

Известно влияние адреналина и ацетилхолина на состояние как системной, так и регионарной гемодинамики. Нами было проведено функционально-диагностическое обследование гемодинамики глаза методом реоофтальмографии у пациентов СГК. Выявили

прямую корреляционную связь слабой силы ($r=0,23$, $p<0,05$; $n=71$) между показателем тонических свойств сосудов глаза α/T (%) и уровнем относительного показателя экспрессии адренорецепции на Т-лимфоцитах., т.е. вероятно усиление спазма сосудов при увеличении адренорецепции.

Связь между иммунной и нервной системой жизненно важна для контроля воспаления. Существует понятие - воспалительный рефлекс, где блуждающий нерв играет важную роль в регуляции метаболического гомеостаза, и представляет собой централизованно интегрированный физиологический механизм. Его эфферентная часть медирует холинергический контроль иммунной функции и противовоспалительный ответ, который контролирует врожденные иммунные реакции и воспаление во время инвазии патогенов и компонентов поврежденных тканей. Афферентные волокна блуждающего нерва воспринимают периферические воспалительные молекулы и передают сигналы в мозг, поэтому они важны для связи иммунной системы с мозгом. Эфферентное холинергическое звено воспалительного рефлекса регулируется через мускариновый рецептор-зависимый механизм в головном мозге. В периферических тканях никотиновый ацетилхолиновый рецептор ($\alpha 7nAChR$) служит для передачи противовоспалительных сигналов в эфферентном плече воспалительного рефлекса. Этот рецептор экспрессируется в макрофагах, моноцитах, дендритных клетках, Т-клетках и других ненейронных клетках. Эфферентные окончания блуждающего нерва могут напрямую регулировать иммунную функцию, высвобождая ацетилхолин, без необходимости передачи сигналов к селезенке или Т-клеткам. Отсутствие такого воспалительного рефлекса, возникающее в результате поражения нерва или генетической абляции его основных компонентов, приводит к чрезмерным врожденным иммунным ответам и токсичности цитокинов [15].

По данным современных литературных источников, первичные и вторичные лимфоидные органы иннервируются только симпатико-адренергическими окончаниями вегетативной нервной системы. Сведения о парасимпатической иннервации противоречивы. При активном воспалении провоспалительные цитокины повышают активность СНС [5].

В нашей предыдущей работе выявлена взаимосвязь между характером рецидивирования СГК и активностью симпатической нервной системы: при воспалительном процессе: с частотой более 1 раза в год увеличивается влияние симпатического звена вегетативной нервной регуляции на 27,2% по сравнению с редко рецидивирующим процессом (рецидив 1 раз в год и менее) [23].

Врожденные иммунные реакции активируются молекулярными паттернами, обусловленными патогенами, которые распознаются сенсорами на поверхности иммунных клеток или во внутриклеточных комплексах. Среди них рецепторы для нейротрансмиттеров на Т-клетках, такие как М- (мускариновые) и Н- (никотиновые) ацетилхолиновые рецепторы, а также адренергические α - и β - рецепторы [6,7,8]. В современной литературе недостаточно освещена роль данной рецепции на лимфоцитах при воспалительной офтальмопатологии. В предыдущей работе нами были проведены исследования адренорецепции и ацетилхолинорецепции при передних увеитах, осложненных макулярным отеком. Было обнаружено, что в период рецидива у больных, осложненных передним увеитом, уровень экспрессии адреналиновых и ацетилхолиновых рецепторов на лимфоцитах периферической крови выше, чем у больных передним увеитом без осложнений на 32,7% и на 25,2% соответственно [20].

В настоящей работе нами определена экспрессия адрено- и ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах в разные периоды течения рецидивирующего СГК. Следует сказать, что ее уровень во всех периодах был значимо выше, чем в группе контроля. Но наиболее высокий уровень наблюдался в период рецидива, фактически в 2 раза выше, чем в норме. При исходе рецидива и ремиссии уровень адренорецепции был ниже на 20,6%, а ацетилхолиновой рецепции ниже на 16,6%, чем при рецидиве. Но в этот период экспрессия адренорецепции и ацетилхолиновой рецепции была выше нормы на 41%-64% соответственно, что скорее всего отражает адаптацию иммунного

ответа к хроническому воспалительному процессу. Наиболее четко данный процесс отражает показатель относительного количества Т-лимфоцитов с экспрессией адрено- и ацетилхолиновой рецепции в связи с меньшей вариабельностью значений в сравнении с абсолютным показателем количества Т-лимфоцитов с адрено- и ацетилхолиновой рецепции в объеме крови. Поэтому мы считаем его более диагностически информативным.

Таким образом, при клинически определяемом активном воспалении отмечается увеличение экспрессии рецепции к нейротрансмиттерам, что вероятно может служить одним из неспецифических биомаркеров воспалительного процесса при стертых клинических формах рецидива. Исходя из результатов работы, при повышении относительного показателя количества Т-лимфоцитах периферической крови с экспрессией адрено- и ацетилхолиновой рецепции выше 13% или повышении этого показателя на 20% от исходных данных при ремиссии можно диагностировать активацию воспалительного процесса - рецидив при стертых формах стромального рецидивирующего СГК.

На основании проведения корреляционного анализа отмечено, что увеличение адрен- и ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах способствует в первую очередь активации клеточного иммунитета и особенно активации клеток хелперов, которые первыми атакуют инфекцию. Менее выраженные взаимодействия определяется с компонентами гуморального иммунитета, в частности только адренорецепция коррелирует с уровнем IgA с коэффициентом корреляции слабой силы. Вероятно адрен- и ацетилхолиновая рецепция на Т-лимфоцитах активно включается в иммунный ответ при раннем реагировании на патоген, в острую фазу, поскольку гуморальный ответ более медленный.

При изучении патогенетической роли экспрессии адрено- и ацетилхолиновой рецепции при СГК мы изучали ее взаимосвязь с уровнем провоспалительных (TNF- α и IL -6) и противовоспалительных интерлейкинов (IL -10, IL- 4) в сыворотке крови. Выявили, что только TNF- α имеет прямую корреляционную связь средней силы и только с экспрессией ацетилхолиновой рецепции. По данным литературы известно, что стимуляция блуждающего нерва подавляет сывороточные уровни провоспалительных цитокинов у грызунов с эндотоксемией, а ацетилхолин ингибирует высвобождение TNF, IL-1 β и IL-18 из липополисахарид-стимулированных макрофагов [24]. Именно поэтому, вероятнее всего, по данным нашей работы, увеличение TNF- α в сыворотке крови влечет увеличение количества Т-лимфоцитов с экспрессией ацетилхолиновой рецепции. TNF- α является мощным провоспалительным цитокином, вырабатываемым в основном клетками Th1, а также макрофагами, и функционирует в опосредовании реакции острой фазы, хемотаксиса и активации воспалительных и антиген-презентирующих клеток [25]. В предыдущих наших работах была выявлена повышенная экспрессия провоспалительного цитокина TNF- α в сыворотке крови как в период рецидива СГК- в среднем в 5,6 раз, но и в период ремиссии – в 2,6–4 раза [26].

В данной работе выявлены прямые сильные корреляционные связи экспрессии адрено- и ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах и субпопуляций лимфоцитов с молекулярными маркерами CD 54 (ICAM-1, маркер адгезии, провоспалительный маркер), CD 25 (маркер ранней активации лимфоцитов) и CD 95 (маркер апоптоза) у пациентов СГК и связь средней силы с CD 5 (маркер аутоиммунного процесса). Это вероятно объясняется более активным участием адрено- и ацетилхолиновой рецепции в процессе воспаления и апоптоза, и менее активным в аутоиммунном процессе. Роль ICAM-1 в стимулировании воспалительных реакций хорошо известна. Это главный регулятор многих важных клеточных функций как в начале, так и при разрешении патологических состояний [27]. В проведенных ранее исследованиях мы рассмотрели диагностические возможности при определении такого биомаркера воспаления, как ICAM-1 при кератитах вирусной этиологии. Его экспрессия на лимфоцитах в периферической крови у больных

СГК по абсолютным и относительным значениям превышала норму в 4,0-3,1 раза соответственно. У пациентов с первичным процессом и в период рецидива хронического СГК экспрессия маркера ICAM-1 была на 16% выше, чем в спокойный период хронического течения ГК [28].

Таким образом, выявлена прямая корреляционная связь между уровнем экспрессии адрено- и ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах и биомаркерами воспаления и апоптоза у больных рецидивирующим СГК, что может обосновать его применение как неспецифического биомаркера рецидива в комплексе с маркерами воспаления.

Выводы:

- 1) уровень экспрессии адренорецепции/ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах периферической крови в период ремиссии/рецидива рецидивирующего СГК значимо выше, чем в группе контроля на 30,1%/53,8% - 84%/97,2% соответственно.
- 2) при исходе рецидива и в период ремиссии СГК уровень адренорецепции был ниже на 20,6%, а ацетилхолиновой рецепции ниже на 16,6%, чем при рецидиве.
- 3) Выявлена сильная прямая связь экспрессии адренорецепции/ацетилхолиновой рецепции на Т-лимфоцитах периферической крови с показателями клеточного иммунитета: с CD 4 (хелперами), CD 8 (супрессорами) и CD 16 (натуральными киллерами), а также прямая сильная корреляционная связь с субпопуляциями лимфоцитов с молекулярными маркерами CD 54 (ICAM-1, провоспалительный маркер), CD 25 (маркер ранней активации лимфоцитов) и CD 95 (маркер апоптоза); а также прямая связь средней силы с CD 5 (маркер аутоиммунного процесса) и уровнем провоспалительного цитокина TNF- α у пациентов СГК.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Dujaili, L.J. Ocular herpes simplex virus: how are latency, reactivation, recurrent disease and therapy interrelated / L.J. Dujaili, P.P.Clerkin, C.Clement, H.E.McFerrin, P.S.Bhattacharjee, E.D.Varnell, H.E.Kaufman, J.M.Hill [et. al.] // *Future Microbiology*, – 2011, 6(8), – p.877-907.
2. Wilhelmus, K.R. Diagnosis and management of herpes simplex stromal keratitis // *Cornea*, – 1987. 6(4), – p.286-291.
3. Holbach, L.M. Recurrent herpes simplex keratitis with concurrent epithelial and stromal involvement. Immunohistochemical and ultrastructural observations / L.M.Holbach, R.M.Font, K.R.Wilhelmus [et. al.] // *Arch. Ophthalmol.*, – 1991. 109(5), – p.692-695.
4. Гайдамака, Т.Б. Взаимосвязь клинико-функциональных проявлений и патоморфологических изменений роговицы у больных герпетическим кератитом / Т.Б.Гайдамака, Г.И.Дрожжина, Н.И.Храменко, Н.Е.Думброва [и др.] // *Офтальм. журн.*, – 2011. (5), – с.12-16.
5. Chhatar, S. Role of adrenergic receptor signalling in neuroimmune communication / S.Chhatar, G.Lal [et. al.] // *Curr. Res. Immunol.*, – 2021. Nov; 25. 2, – p.202-217.
6. Quatrini, L. Neuroendocrine regulation of innate lymphoid cells / L.Quatrini, E.Vivier, S.Ugolini [et. al.] // *Immunol. Rev.*, – 2018. Nov; 286(1), – p.120-136.
7. Arreola, R. Immunomodulatory Effects Mediated by Dopamine // S.Alvarez-Herrera, G.Pérez-Sánchez, E.Becerril-Villanueva, C.Cruz-Fuentes, E.O.Flores-Gutierrez, M.E.Garcés-Alvarez, D.L.de la Cruz-Aguilera, E.Medina-Rivero, G.Hurtado-Alvarado, S.Quintero-Fabián, L.Pavón [et. al.] // *J. Immunol. Res.*, – 2016.

8. Elkhatib, S.K. Autonomic regulation of T-lymphocytes: Implications in cardiovascular disease / S.K.Elkhatab, A.J.Case [et. al.] // *Pharmacol. Res.*, – 2019. Aug;
9. Segerstrom, S.C. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry / S.C.Segerstrom, G.E.Miller [et. al.] // *PsycholBull.*, – 2004. Jul; 130(4), – p.601-630.
10. Araujo, L.P. The sympathetic nervous system mitigates CNS autoimmunity via beta2-adrenergic receptor signaling in immune cells / L.P. Araujo, J.T.Maricato, M.G.Guereschi, M.C.Takenaka, V.M.Nascimento, F.M.de Melo, F.J.Quintana, P.C.Brum, A.S.Basso [et. al.] // *Cell Rep.*, – 2019. 28, – p.3120-3130. e312
11. Virginia, M.Sanders. The beta2-adrenergic receptor on T and B lymphocytes: Do we understand it yet? // *Brain, Behavior, and Immunity*, – 2012. Volume 26, Issue 2, – p.195-200.
12. Peng, Y.P. Effect of catecholamines on IL-2 production and NK cytotoxicity of rats in vitro / Y.P.Peng, Y.H.Qiu, J.L.Jiang, J.J.Wang [et. al.] // *Acta. Pharmacol. Sin.*, – 2004. Oct; 25(10), – p.1354-1360.
13. Jiang, J.L. Effect of the endogenous catecholamines synthesized by lymphocytes on T cell proliferation / J.L.Jiang, Y.P.Peng, Y.H.Qiu, J.J.Wang [et. al.] // *Zhongguo Ying Yong Sheng Li XueZaZhi*, – Chinese: – 2009. Feb; 25(1), – p.81-85.
14. Qiu, Y.H. Effect of endogenous catecholamines in lymphocytes on lymphocyte function / Y.H.Qiu, C.Cheng, L.Dai, Y.P.Peng [et. al.] // *J. Neuroimmunol.*, – 2005. Oct; 167(1-2), – p.45-52.
15. Pavlov, V.A. The vagus nerve and the inflammatory reflex-linking immunity and metabolism / V.A.Pavlov, K.J.Tracey [et. al.] // *Nat. Rev. Endocrinol.*, – 2012. Dec; 8(12), – p.743-754.
16. Kawashima, K. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity / K.Kawashima, T.Fujii [et. al.] // *Life Sci.*, – 2003. Dec; 26. 74(6), – p.675-696.
17. Mueller, S.N. Neural control of immune cell trafficking // *J. Exp. Med.*, – 2022. Mar; 7. 219(3).
18. Cox, M.A. Choline acetyltransferase-expressing T cells are required to control chronic viral infection / M.A.Cox, G.S.Duncan, G.H.Y.Lin, B.E.Steinberg, L.X.Yu, D.Brenner, L.N.Buckler, A.J.Elia, A.C.Wakeham, B.Nieman, C.Dominguez-Brauer, A.R.Elford, K.T.Gill, S.P.Kubli, J.Haight, T.Berger, P.S.Ohashi, K.J.Tracey, P.S.Olofsson, T.W.Mak [et. al.] // *Science*, – 2019. Feb; 8. 363(6427), – p.639-644.
19. Harle, P. Increase of sympathetic outflow measured by neuropeptide Y and decrease of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis tone in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: another example of uncoupling of response systems // *Ann. Rheum. Dis.*, – 2006. 65, – p.51-56.
20. Khramenko, N. Level of adrenoception and acetylcholine reception on lymphocytes in peripheral blood in patients with anterior uveitis complicated by macular edema / N.Khramenko, V.Usov, L.Velychko, N.Konovalova, O.Bogdanova [et. al.] // *DOG. Online*, – 2021. Abstract number A-1213-0052-00519.
21. Величко, Л.М. Богданова, О.В. Патент № 103483 Спосіб дослідження рецептор-модифікуючого впливу фармакологічних імунотропних препаратів на маркери активації клітин // – 2015. Бюл., № 24.
22. Дегтяренко, Т.В. Макулькин, Р.Ф. Биогенные стимуляторы и иммунореактивность, - в 2-х томах, том 2 // – Одесса: Маяк, – 1997. – с.24.

23. Храменко, Н.И. Особенности состояния вегетативной нервной системы и ее влияние на регионарную гемодинамику глаза у больных с различным характером течения рецидивирующего герпетического кератита / Н.И.Храменко, В.С.Пономарчук, Т.Б.Гайдамака, Г.И.Дрожжина [и др.] // Офтальм. журн., – 2013. 6, – с.5-11.
24. Borovikova, L.V. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin / L.V.Borovikova, S.Ivanova, M.Zhang, H.Yang, G.I.Botchkina, L.R.Watkins, H.Wang, N.Abumrad, J.W.Eaton, K.J.Tracey [et. al.] // Nature, – 2000. May; 25. 405(6785), – p.458-462.
25. Sekine-Okano, M. Expression and release of tumor necrosis factor-alpha by explants of mouse cornea / M.Sekine-Okano, R.Lucas, D.Rungger [et. al.] // Invest Ophthalmol. Vis. Sci., – 1996. 37, – p.1302-1310.
26. Храменко, Н.И. Уровень провоспалительных (TNF- α и IL-6) и противовоспалительных интерлейкинов (IL-10, IL-4) в сыворотке крови у больных в зависимости от частоты рецидивирования офтальмогерпеса / Н.И.Храменко, Т.Б.Гайдамака, Г.И.Дрожжина, Л.Н.Величко [и др.] // Офтальм. журн., – 2020. 5, – p.13-20.
27. Bui, T.M. (2020) ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis / T.M.Bui, H.L.Wiesolek, R.Sumagin [et. al.] // J. LeukocBiol, – 2020. vol.108, №3, – p.787-799.
28. Khramenko, N.I. ICAM-1 expression on blood lymphocytes in patients with stromal herpes keratitis at different periods of disease / N.I.Khramenko, T.B.Gaidamaka, G.I.Drozhzhyna, L.N.Velychko, A.V.Bogdanova [et. al.] // J. Ophthalmol., – Ukraine: – 2020. 3, – p.23-28.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Храменко Н.И., Величко Л.Н., Дрожжина Г.И.

Сбор и обработка материала: Храменко Н.И., Величко Л.Н., Богданова А.В.,

Статистическая обработка данных: Храменко Н.И.

Написание текста: Храменко Н.И.

Редактирование: Дрожжина Г.И., Величко Л.Н., Богданова А.В

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов**Для корреспонденции:**

Храменко Н.И. – к.м.н., старший научный сотрудник отдела функциональных методов исследования органа зрения ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины»

Email: khramenkonn@gmail.com