

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПЕЛОИДОВ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТРАВМАТИЧЕСКОГО КЕРАТИТА

Е. П. Сотникова, д-р мед. наук, проф., **Г. С. Фесюнова**, канд. биол. наук, **А. Б. Абрамова**, науч. сотр., **Б. Н. Соколова**, науч. сотр., **В. И. Салдан**, канд. биол. наук, **Т. Д. Лотош**, канд. биол. наук, **В. Л. Осташевский**, канд. мед. наук, **С. Г. Коломийчук**, науч. сотр.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

Отримані результати дослідження свідчать про те, що інстиляції біопелоїдів при травматичному кератиті у кроликів проявляють виражений стимулюючий вплив на репаративні процеси, прискорюючи загоєння рани рогівки. При цьому виявлено їх протизапальну і протинабрякову дію, що характеризує лікувальну ефективність біопелоїдів. На моделі травматичного кератиту вивчено стан глутатионової системи рогівки. Одержані результати свідчать про значне порушення системи глутатіона при розвитку запального процесу. Експериментально обґрунтована можливість корекції окислювально-відновної системи глутатіону шляхом застосування біопелоїдів.

Ключевые слова: травматический кератит, биопелоиды, лечебная эффективность, глутатионовая система, эксперимент

Ключові слова: травматичний кератит, біопелоїди, лікувальна ефективність, глутатионова система, експеримент

ВВЕДЕНИЕ. Перспективным направлением медикаментозной терапии травматических поражений органа зрения является разработка офтальмологических препаратов на основе природных метаболитов.

В этом плане заслуживают внимания биопелоиды — продукт отгона лиманной грязи. В своё время Н. Н. Мальте (1969–1989) занималась изучением лечебного действия грязевых аппликаций при патологии органа зрения [10]. Экспериментально-клинические исследования показали, что они активируют обмен веществ и повышают проникновение лекарств в конъюнктивальную полость, оживляют процессы рассасывания фибрина, рубцов и инфильтратов роговицы. В последующие годы (1999–2006) в работах А. А. Ватченко, В. Н. Сакович, М. В. Дунаевой и др. был подробно освещён механизм лечебного действия аппликаций пелоидов при хронических заболеваниях органа зрения [2–5].

В офтальмологической практике достаточно широко применяется инъекционный препарат из отгона лиманной грязи, в состав которого входят высшие карбоновые кислоты предельного и непредельного ряда, фенолкарбоновые кислоты, амины. Фармакологическое действие препарата связано с активацией защитно-приспособительных систем организма, повышением иммунологической реактивности, ускорением процессов регенерации. Его назначают при блефаритах, керато-конъюнктивитах, воспалительных заболеваниях сосудистого тракта, помутнении стекловидного тела, миопических хориоретинитах, атрофии зрительного нерва [9, 13].

Известно, что местные инстиляции лекарственных средств более удобны в офтальмологической практике, ибо обеспечивают высокую степень всасывания их через конъюнктиву и усиливают лечебный эффект [1, 3, 4].

Таким образом создание глазных лекарственных форм на основе лечебных пелоидов, изучение особенностей их фармакологического действия, влияния на трофические процессы в тканях глаза и лечебной эффективности имеет важное практическое значение для фармакотерапии заболеваний конъюнктивы и роговицы.

Цель исследования: изучить лечебную эффективность биопелоидов при моделировании травматического кератита у кроликов и возможность коррекции нарушения восстановительной системы глутатиона в роговице.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Моделирование травматического кератита проводилось согласно методическим рекомендациям Фармцентра МЗ Украины [14]. Эксперимент поставлен на 56 кроликах породы шиншилла, массой 2,5–3,5 кг, распределенных на три группы: I — интактная группа (6 шт.); II — контрольная группа (травматический кератит + инстиляции физ.раствора); III — опытная группа (травматический кератит + инстиляции биопелоидов). Кроликам II и III групп под местной анестезией 0,4 % раствором инокаина с помощью хирургического трепана d-5 мм на правом глазу в области зрачка производили кольцевой дозированный надрез роговицы, в пределах которого офтальмологическим скальпелем расслаивали поверхностные слои роговицы. Левый глаз животных служил контролем. На следующий

© Е. П. Сотникова, Г. С. Фесюнова, А. Б. Абрамова, Б. Н. Соколова, В. И. Салдан, Т. Д. Лотош, В. Л. Осташевский, С. Г. Коломийчук, 2010

день оперированные глаза кроликов фотографировали и проводили трехкратные инстилляции испытуемых растворов. Ежедневно производили наружный осмотр при боковом (фокальном) освещении, регистрировали состояние конъюнктивы и роговицы кроликов с использованием флюоресцина. Активность биопелоидов оценивали по степени регресса клинических проявлений воспалительного процесса сравнительно с нелеченым контролем и по срокам полного заживления дефекта (сроки репарации эпителия роговицы) в баллах [11]:

Конъюнктивит: кровеносные сосуды нормальные — 0; незначительная гиперемия сосудов — 1; диффузная — отдельные сосуды не различимы — 2; кровоизлияния — 3. Отделяемое из конъюнктивальной полости: отсутствует — 0; слизистое — 1; слизисто-гнойное — 2; обильное гноеподобное — 3. Отек роговицы: отсутствует — 0; локальный — 1; диффузный — 2. Инфильтрация роговицы: отсутствует — 0; поверхностная ограниченная — 1; глубокая ограниченная — 2; обширная — 3. Эпителизация (динамика регенерации роговицы): полная регенерация области насечки — 0; более 3/4 — 1; более половины — 2; более четверти — 3; одна четверть — 4. Характеристика рубца (исход патологического процесса): прозрачный без помутнения ткани — 0; неинтенсивный с помутнением в зоне насечки — 1; интенсивный с помутнением в зоне насечки — 2; интенсивный с вращением сосудов — 3.

На 3-й, 7-й и 10-й дни эксперимента кроликов (по 6 особей из каждой группы) выводили из опыта методом воздушной эмболии под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг) для дальнейшего изучения влияния биопелоидов на содержание окисленного и восстановленного глутатиона в роговице глаза. Из энуклеированных глаз вырезали роговицу, которую гомогенизировали в 0,9 % растворе хлорида натрия в соотношении 1 : 19 (вес : объём).

Принцип метода определения содержания восстановленного глутатиона характеризуется тем, что в результате реакции между глутатионом и метилглиоксальем в присутствии фермента глиоксалазы происходит образование конъюгата S-лактоилглутатиона, имеющего максимум поглощения при длине волны 240 нм. Принцип метода определения окисленной формы глутатиона основан на том, что в результате ферментативного восстановления глутатиона глутатионредуктазой происходит окисление восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН₂), изменения которого регистрируют спектрофотометрически при длине волны 340 нм [15].

Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре «Спекол-210» (Карл Цейс, Германия). Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием t — критерия Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. После воспроизведения травматического кератита у кроликов обеих групп наблюдалась воспалительная реакция в виде гиперемии конъюнктивы и слизистого отделяемого из конъюнктивальной полости (рис.1), отёка, инфильтрации роговицы (рис.2).

Уже на третьи сутки эксперимента у кроликов опытной группы состояние конъюнктивы значительно улучшилось: практически отсутствовала гиперемия сосудов конъюнктивы (0,1±0,02 балла), явления отёка (0,1±0,01 балла) и инфильтрации

роговицы (0,2±0,03 балла). В контрольной группе в этот же срок отмечалась незначительная гиперемия конъюнктивы, (0,2±0,08 балла), смешанная инъекция конъюнктивы с незначительным отделяемым (0,7±0,05 балла). На роговице в области травмы наблюдался значительный отёк (0,5±0,05 балла).

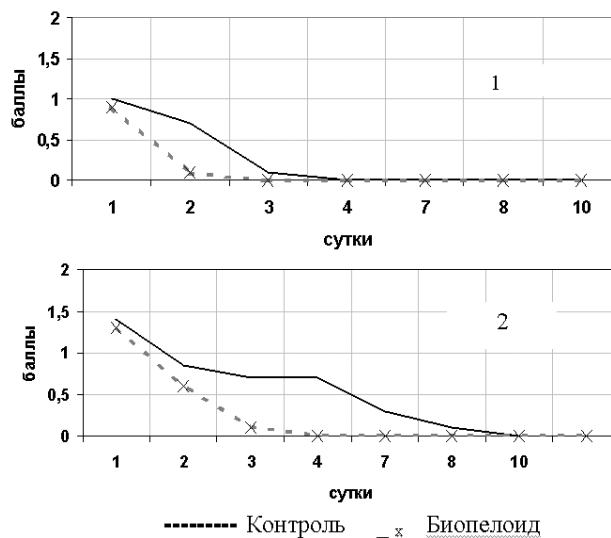


Рис. 1. Критерии клинической оценки состояния конъюнктивы: 1 — гиперемия, 2 — отделяемое

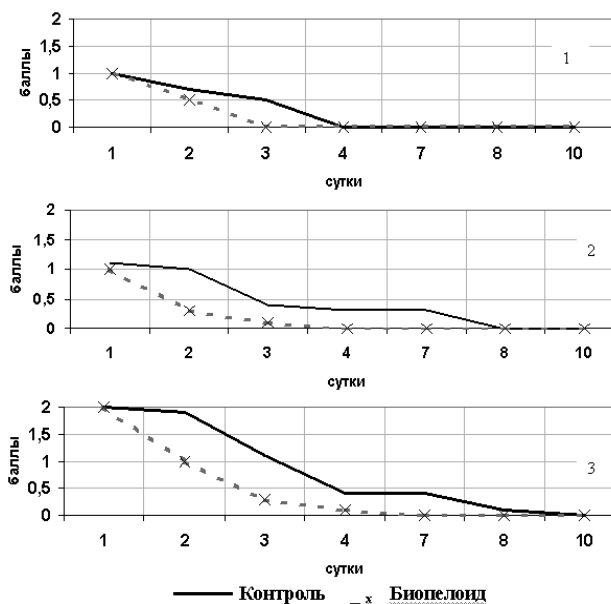


Рис. 2. Критерии клинической оценки состояния роговицы: 1 — отёк, 2 — инфильтрация, 3 — эпителизация

На четвертые сутки у всех кроликов опытной группы полностью исчезли гиперемия и отделяемое конъюнктивы, инфильтрация роговицы. Эпителизация более 3/4 роговицы в области насечки началась с (3,2±0,12) дня и к (4,5±0,16) дню завершилась полная регенерация. В контрольной группе в этот же срок ещё наблюдались легкая инъекция

конъюнктивы, умеренный отёк ($0,3 \pm 0,12$ балла), инфильтрация роговицы ($0,4 \pm 0,02$ балла), а также точечные или в виде облачка участки эрозии. Только на десятые сутки состояние конъюнктивы и

роговицы кроликов контрольной группы по клиническим критериям сравнялось с опытной группой: исчезли отёк и инфильтрация роговицы, завершилась эпителизация (рис. 3, 4).

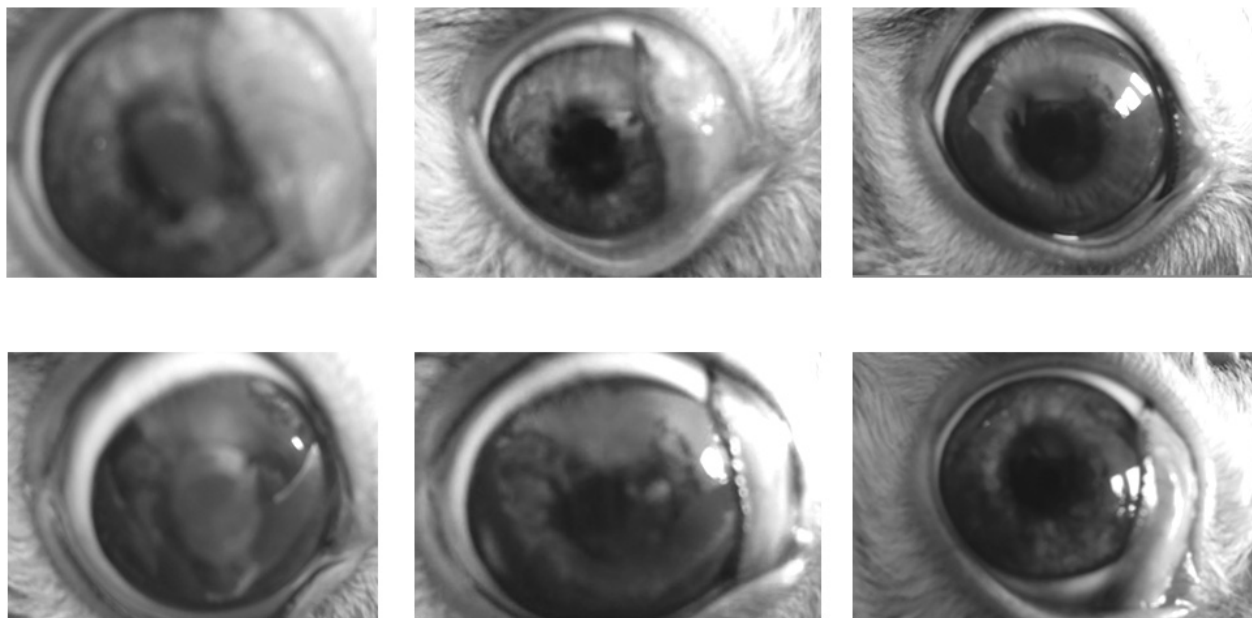


Рис. 3. Кролики № 1 и № 2 (контрольная группа)

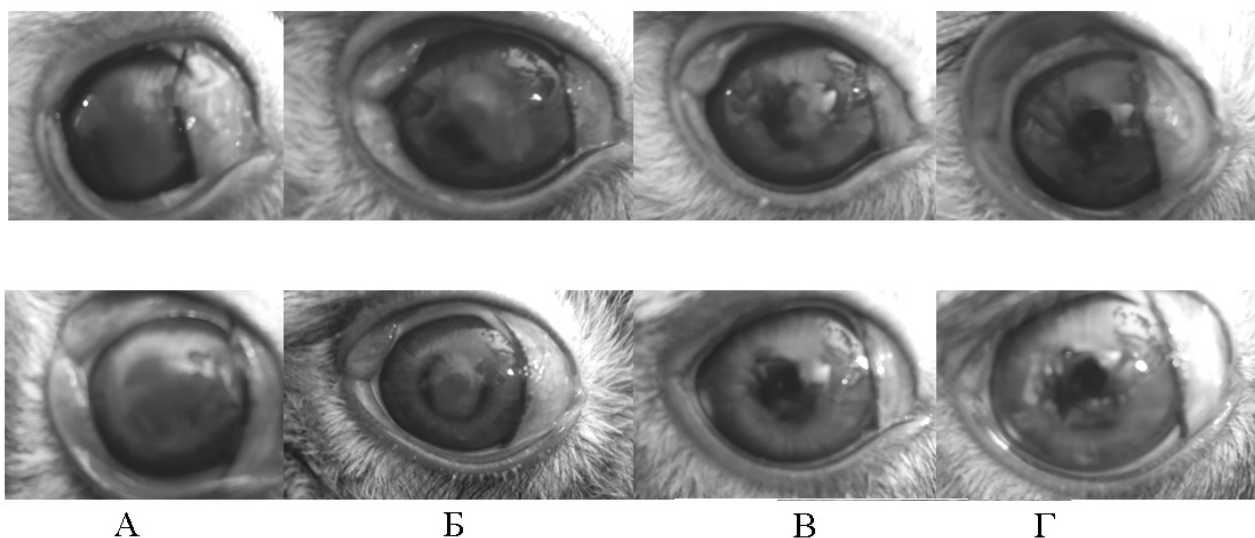


Рис. 4. Кролики № 8, № 9 (опытная группа): А — 1-е сутки; Б — 3-и сутки; В — 4-е сутки; Г — 7-е сутки

В исходе травмы у кроликов, леченных биопелоидами, встречались неинтенсивные помутнения роговицы ($0,5 \pm 0,12$ балла). На контрольных глазах сохранялись помутнения различной степени интенсивности ($1,7 \pm 0,32$ балла). Через месяц после завершения эксперимента оптические среды глаз кроликов опытной группы были прозрачными. В контрольной группе у всех животных на-

блюдались неинтенсивные помутнения роговицы ($0,7 \pm 0,20$ балла).

Таким образом, у кроликов, получавших инстилляцию биопелоидов, отмечено наиболее благоприятное течение посттравматического периода, что обусловлено быстрым и эффективным купированием воспалительного процесса на начальных этапах травмы роговицы.

Параллельно с оценкой клинической картины заживления травмы роговицы у кроликов проводилось определение уровня окисленного и восстановленного глутатиона. Глутатион обеспечивает процессы транспорта аминокислот, регенерацию тиоловых групп белков, процессы детоксикации и гашения свободных радикалов, а также участвует в регуляции обменных процессов через функционирование тиоредоксиновой системы [12, 16]. При многих патологических состояниях органа зрения, в частности, при герпетических кератитах наблюдается нарушение восстановительной системы глутатиона в роговице [7]. Глутатион является важным компонентом антиоксидантной системы и играет ключевую роль в нормальном течении физиологических процессов в тканях органа зрения — слизистой конъюнктивы, роговой оболочке, участвует в регуляции воспалительных и иммунных процессов [8]. В этой связи особый интерес представляет изучение состояния тиоловой системы роговицы при развитии патологических состояний, особенно воспалительных процессов — как наиболее частой патологии органа зрения.

Результаты определения уровня окисленного и восстановленного глутатиона в роговице кроликов при травматическом кератите представлены в виде относительных величин на рис. 5.

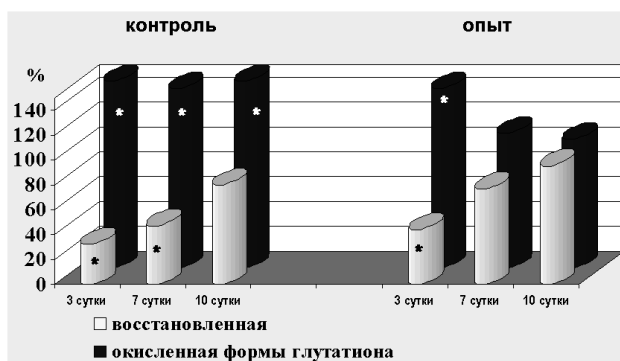


Рис. 5. Влияние инстилляций биопелоидов на уровень окисленной и восстановленной формы глутатиона в роговице кроликов при травматическом кератите. * — достоверность по отношению к интактной группе

Как следует из полученных данных, на третий день наблюдения содержание окисленного глутатиона в изучаемых группах возросло в 1,5 раза по отношению к интактной группе, что свидетельствует о снижении редокс-потенциала глутатионовой системы в ткани роговицы. В то же время содержание восстановленного глутатиона достоверно снизилось: в контрольной группе в 3 раза, в опытной группе — в 2,2 раза. Соотношение между окисленной и восстановленной формами глутатиона свидетельствует, что развитие воспалительного процесса сопровождается резким падением восстановительного потенциала глутатионовой системы

за счёт снижения уровня восстановленной формы кофермента в роговице. В механизме данного процесса важную роль играет стимуляция глутатионпероксидазной реакции, обезвреживающей влияние гидроперекисей липидов, уровень которых значительно возрастает при травматических повреждениях роговицы. На седьмой день в опытной группе содержание восстановленного и окисленного глутатиона в роговице под влиянием инстилляций биопелоидов нормализовалось. В контрольной группе показатели незначительно отличались от ранее полученных результатов.

На десятый день содержание восстановленного глутатиона практически не отличалось от показателей интактных животных. Что касается окисленной формы этого кофермента, то его содержание было превышено в 1,5 раза ($p < 0,01$).

Таким образом, применение биопелоидов при экспериментальном травматическом кератите способствовало нормализации окислительно-восстановительной системы глутатиона в роговице кроликов. Повышение восстановительного потенциала глутатионовой системы в роговице под влиянием биопелоидов способствует защите эпителия роговицы от оксидантного стресса и развитию компенсаторно-адаптационных реакций при воспалении.

ВЫВОДЫ

1. Лечебные инстилляциии биопелоидов при травматическом кератите оказывают выраженное противовоспалительное, противоотечное действие, предотвращают развитие грубых помутнений роговицы, на 4,5–5 суток ускоряют процессы регенерации роговицы по сравнению с контролем.

2. Нарушение окислительно-восстановительной системы глутатиона в роговице является важным патогенетическим звеном при воспалительном процессе, обусловленном травматическим кератитом. Лечебные инстилляциии биопелоидов способствуют нормализации окислительно-восстановительной системы глутатиона в роговице, что подтверждается положительной динамикой течения воспалительного процесса.

3. Полученные результаты являются экспериментальным обоснованием к применению биопелоидов в комплексном лечении травматических кератитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрюкова, Л. Н. Современное состояние и перспективы создания и производства в Украине лекарственных средств для офтальмологии / Л. Н. Андрюкова, Л. Н. Чайка, Е. П. Пивень // Фармаком. — 1999. — № 3–4. — С. 96–99.

2. **Ватченко А. О.** Механізм дії пелоїдів при очних захворюваннях / А. О. Ватченко, М. В. Дунаєва, Н. Т. Максименко // Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 17–18 вересня 2003 р : тези доп. — Одеса, 2003. — С. 50–51.
3. **Ватченко А. А.** Пелоиды в лечении герпетических древовидных кератитов / А. А. Ватченко, В. Н. Сакович // Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 17–18 вересня 2003 р : тези доп. — Одеса, 2003. — С. 51.
4. **Ватченко А. А.** Пелоиды в лечении осложнений после травм и хирургических вмешательств на органе зрения / А. А. Ватченко, В. Н. Сакович, Н. Т. Максименко // Наук. конф. офтальмологів, присвячена 90-річчю акад. Н. О. Пучківської: наук. конф., 25–26 травня 1998 р.: тези доп. — Одеса, 1998. — С. 234–236.
5. **Ватченко А. А.** Применение пелоидов в сочетании с ультразвуком в лечении последствий травм органа зрения / А. А. Ватченко, В. Н. Сакович, Л. М. Одицова // Наук. конф. офтальмологів, присвячена 125-річчю з дня народж. акад. В. П. Філатова: наук. конф., 18–19 травня 2000 р.: тези доп. — Одеса, 2000. — С. 376–377.
6. Гланс С. Медико-биологическая статистика / Гланс С.; [пер. с англ. Ю. А. Данилова]. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
7. **Каминская Е. В.** Состояние глутатионовой системы при экспериментальном поверхностном герпетическом кератите / Е. В. Каминская, Г. И. Дрожжина // Офтальмол. журн. — 2006. — № 1. — С. 47–49.
8. **Коржов В. И.** Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // Журнал академії медичних наук України. — 2007. — Т. 13, № 1. — С. 3–19.
9. **Лещинский А. Ф.** Пелоидо- и фармакотерапия при воспалительных заболеваниях / А. Ф. Лещинский, З. И. Зуза. — К.: Здоров'я, 1985. — 184 с.
10. **Мальте Н. Н.** Грязелечение в офтальмологии: автореф. дис. на соискание научной степени д-ра мед. наук.: спец. 14757: «Глазные болезни» / Н. Н. Мальте. — М., 1969. — 37 с.
11. **Осташевский В. Л.** Лечебное действие ингибиторов протеаз при гнойном язвенном кератите: автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук: спец. 14.01.18 «Глазные болезни» / В. Л. Осташевский. — Одесса, 1982. — 22 с.
12. **Павлюченко К. П.** Исследование глутатиона в сетчатке крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом / К. П. Павлюченко, Т. В. Олейник // Эколог. пробл. клин. офтальмол. — 2004. — № 8 (61). — С. 355–362.
13. **Сакович В. Н.** К вопросу об использовании пелоидов в комплексной терапии больных воспалительными заболеваниями роговой оболочки и их последствиями / В. Н. Сакович // Офтальмол. журн. — 2002. — № 6. — С. 63–67.
14. Экспериментальное изучение безвредности и фармакологической активности глазных лекарственных средств : метод. рекомендации / [Л. А. Чайка, А. Г. Ципкун, Т. Б. Гайдамака и др.]. — К.: Авиценна, 2003. — 43.
15. **Bergmeyer H.** Methoden der ezymatischen Analyse Herausgeben von Bergmeyer Berlin / H. Bergmeyer. — 1986. — S. 2254–2265.
16. **Reyk D. M.** The retina: oxidative stress and diabetes / **Reyk D. M., Gillies M. C., Davies M. J.** // Redox Rep. — 2003. — Vol.8 (4). — P. 187–19.

*Поступила 25.03.2010.
Рецензент д-р мед. наук Г. И. Дрожжина*

THERAPEUTIC EFFICACY OF BIOPELOIDS IN MODELING OF TRAUMATIC KERATITIS

Sotnikova E. P., Fesyunova G. S., Abramova A. B., Sokolova B. N., Saldan V. I., Lotosh T. D.,
Ostashevskiy V. L., Kolomijchuk S. G.

Odessa, Ukraine

The data of the study are evidence of marked stimulating effect on the reparative processes in instillation of biopeloids in traumatic keratitis in rabbits accelerating corneal wound healing. There was revealed their anti-inflammatory and antiedematous effect characterizing their therapeutic efficacy. The state of the glutathione system of the cornea was studied on the model of traumatic keratitis and its significant disturbance was established in development of the inflammatory process. There was experimentally substantiated the possibility of correction of the oxidation-reduction system of glutathione by using biopeloids.

