

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛУДАНА И ГИСТОХРОМА У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТОМ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ РАЗЛИЧНОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

© *Медведева М.В.<sup>1</sup>, Калуцкий П.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Кафедра офтальмологии, <sup>2</sup>кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии  
Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: [mari-la2003@mail.ru](mailto:mari-la2003@mail.ru)

Исследована эффективность использования сочетания иммуномодулятора полудана и антиоксиданта гистохрома в терапии экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок, находящихся в условиях фоновых и повышенных значений магнитного поля. Показано, что комбинация полудана и гистохрома оказывает благоприятное действие на иммунометаболические факторы гомеостаза организма животных и улучшает течение экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок как при фоновых значениях геомагнитного поля, так и в аномальном магнитном поле, что связано с адекватной активацией внутриклеточных антибактериальных систем фагоцитов, лактоферрина и церулоплазмينا, снижением уровней малонового диальдегида, супероксиддисмутазы, каталазы и лактатдегидрогеназы.

**Ключевые слова:** магнитное поле, полудан, гистохром, иммунометаболические факторы гомеостаза, кератоконъюнктивит, лабораторные животные.

### EFFICIENCY OF COMBINED USE OF POLUDAN AND HISTOCHROME IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL KERATOCONJUNCTIVITIS IN TERMS OF EXPOSURE TO MAGNETIC FIELDS OF DIFFERENT TENSIONS

*Medvedeva M. V.<sup>1</sup>, Kalutsky P. V.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, <sup>2</sup>Department of Microbiology, Virology, Immunology  
of Kursk State Medical University, Kursk

We investigated the efficiency of using a combination of immunomodulator poludan with antioxidant histochrome in managing the experimental keratoconjunctivitis in guinea pigs under the background and elevated values of the magnetic field. It has been revealed that the combination of poludan and histochrome has a beneficial effect on immuno-metabolic factors of homeostasis in animals and improves the course of experimental keratoconjunctivitis in guinea pigs both in the background values of the geomagnetic field and the abnormal magnetic field. It is connected with the adequate activation of intracellular antimicrobial systems of phagocytes, lactoferrin, and ceruloplasmin, as well as the lower levels of malondialdehyde, superoxide dismutase, catalase, and lactate dehydrogenase.

**Keywords:** magnetic field, poludan, histochrome, immuno-metabolic factors of homeostasis, keratoconjunctivitis, laboratory animals.

Воспалительными заболеваниями переднего отрезка глаза страдают 30-40% больных, обращающихся за медицинской помощью по поводу офтальмологической патологии. Концентрация и активность защитных факторов слезной пленки чрезвычайно чувствительны даже к минимальным изменениям метаболизма тканей органа зрения. На состояние глаза могут влиять физические факторы окружающей среды (среди которых большую роль играют магнитные поля), оказывающие доказанное негативное воздействие на многие системы организма, значительно изменяя характер и силу ответной реакции организма [1, 2, 4, 5, 6, 7, 10 и др.]. Установлено, что геомагнитное поле (ГМП) аномальных характеристик (например, региона Курской магнитной аномалии – КМА, где напряженность ГМП в 4-5 раз превышает фоновые значения других регионов), обладает биотропным эффектом: влияет как на здоровый организм, так и на патологически изме-

ненный [5, 12 и др.]. При этом проблема профилактики и лечения воспалительных заболеваний переднего отрезка продолжает оставаться одной из важных в офтальмологии. В то же время недостаточная эффективность антибактериальной терапии, способность магнитных полей влиять на активность лекарственных средств в организме делает актуальными также и работы по исследованию эффектов использования иммуномодуляторов и антиоксидантов, особенно в районах с аномальными геомагнитными характеристиками.

В связи с вышеизложенным целью работы была оценка эффективности использования сочетания иммуномодулятора полудана и антиоксиданта гистохрома в терапии экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок, находящихся в условиях фоновых и повышенных значений магнитного поля.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на 60 морских свинок-самцах массой 700-900 г, разделенных на 6 групп по 10 животных в каждой (2 экспериментальные, 2 группы сравнения и 2 контрольные группы). У морских свинок четырех групп вызывали экспериментальный кератоконъюнктивит путем инфицирования конъюнктивы глаза взвесью суточной агаровой культуры *Staphylococcus aureus* в концентрации  $2 \times 10^9$  микробных тел/мл после ее легкого травмирования. С целью моделирования воздействия магнитного поля аномальных характеристик использовалась установка, производящая магнитное поле напряженностью 3 эрстеда, что соответствовало значениям ГМП в регионе КМА. Животные трех групп (экспериментальная группа, группа сравнения и контрольная группа) помещались в нее за 2 недели до начала эксперимента и оставались в ней на протяжении всего опыта. Морские свинки еще трех групп находились в условиях фоновых значений ГМП на широте г. Курска.

Морские свинки групп сравнения с кератоконъюнктивитом лечения не получали. Животным экспериментальных групп начиная с третьего дня после моделирования инфекционного процесса проводили курс лечебных мероприятий, включавших внутримышечные инъекции гистохрома 0,02% в дозировке 0,007 мл/кг и инстилляцию полудана ежедневным 15-минутным форсажем с концентрацией 1 ЕД в инфицированный глаз. Для оценки влияния магнитного поля и исследуемых препаратов результаты сравнивали с данными здоровых морских свинок контрольных групп, находившихся при соответствующих уровнях магнитного поля. Исследования проводили в соответствии с Конвенций по защите прав позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, 1986).

Для оценки динамики изменения иммунологических параметров крови у животных производился внутрисердечный забор крови на 3-и и 14-е сутки после инфицирования. Фагоцитарная активность нейтрофилов оценивалась по активности фагоцитоза – фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитов (ИАФ) [19]. Функциональная активность нейтрофилов оценивалась в тесте восстановления нитросинего тетразолия [3, 18]. Рассчитывался индекс стимуляции нейтрофилов (ИСН) и функциональный резерв нейтрофилов (ФРН). О полноценности процесса фагоцитоза судили по его завершенности (ЗФ). В работе использовали нитросиний тетразолий фирмы Lachema (Чехия). Уровень миелопероксидазы

определялся цитохимически по методу Грехема-Кнолля [20]. Состояние кислороднезависимых бактерицидных систем оценивалось по уровню лизосомальных катионных белков (ЛКБ) при постановке лизосомально-катионного теста [16, 21].

Оценку уровня лактатдегидрогеназы производили по В.В. Меньшикову [15], каталазы – по методике М.А. Королюк и соавт. [13], супероксиддисмутазы (СОД) – по Н.Р. Mirsa, Y. Fredovich [22], церулоплазмина – по методике, описанной В.С. Камышниковым [11], малонового диальдегида (МДА) – по В.Г. Гаврилову и соавт. [8], лактоферрина – методом твердофазного ИФА.

Обработка результатов исследования проводилась методами непараметрической статистики [9, 14, 17]. При оценке отличий между количественными данными внутри групп использовался критерий Вилкоксона. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 3-и сутки после инфицирования наблюдалось формирование воспалительного процесса в конъюнктиве, сопровождавшееся формированием дисбаланса иммунной и антиоксидантной систем. Применение комбинации полудана и гистохрома у животных, находившихся при фоновых значениях напряженности ГМП, выявило определенные изменения исследованных параметров. Так, значительно увеличилось фагоцитарное число и индекс активности фагоцитов (рис. 1).

Это сопровождалось менее выраженным нарастанием завершенности фагоцитоза, спонтанного НСТ-теста, уровня лизосомальных катионных белков и функционального резерва нейтрофилов. При этом индекс стимуляции нейтрофилов, значения стимулированного НСТ-теста и уровень миелопероксидазы практически не изменялись.

Повысившись, содержание лактоферрина и церулоплазмина достигло уровня группы контроля. Что касается компонентов окислительно-восстановительной системы, то достоверных изменений исследованных показателей не зарегистрировано, что позволило им оставаться в пределах колебаний значений здоровых животных.

В результате в сравнении с показателями не получавших лечения морских свинок с бактериальным кератоконъюнктивитом использование комбинации полудана и гистохрома привело к более высоким значениям фагоцитарного числа, индекса активности фагоцитов, завершенности фагоцитоза, активности спонтанного НСТ-теста, функционального резерва и индекса стимуляции нейтрофилов, а также лактоферрина и церулоплазмина (рис. 2).

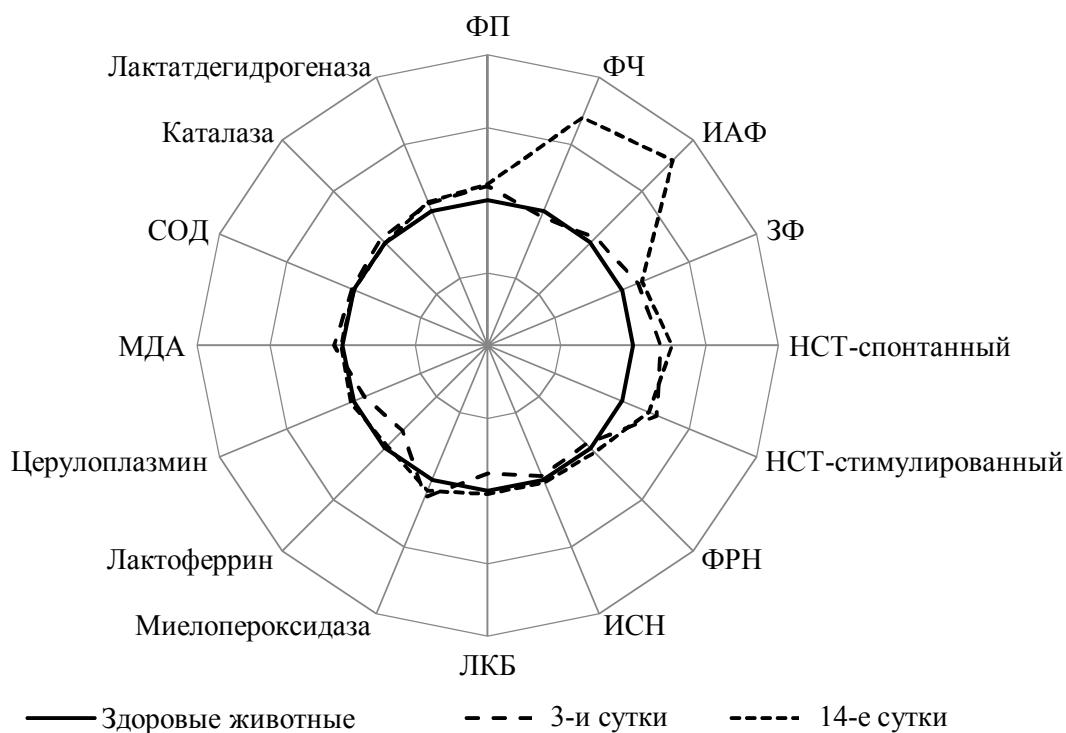


Рис. 1. Показатели фагоцитоза, уровень лактоферрина и ферментов окислительно-восстановительной системы у морских свинок с кератоконъюнктивитом, получавших комбинацию полудана и гистохрома при фоновых значениях ГМП.

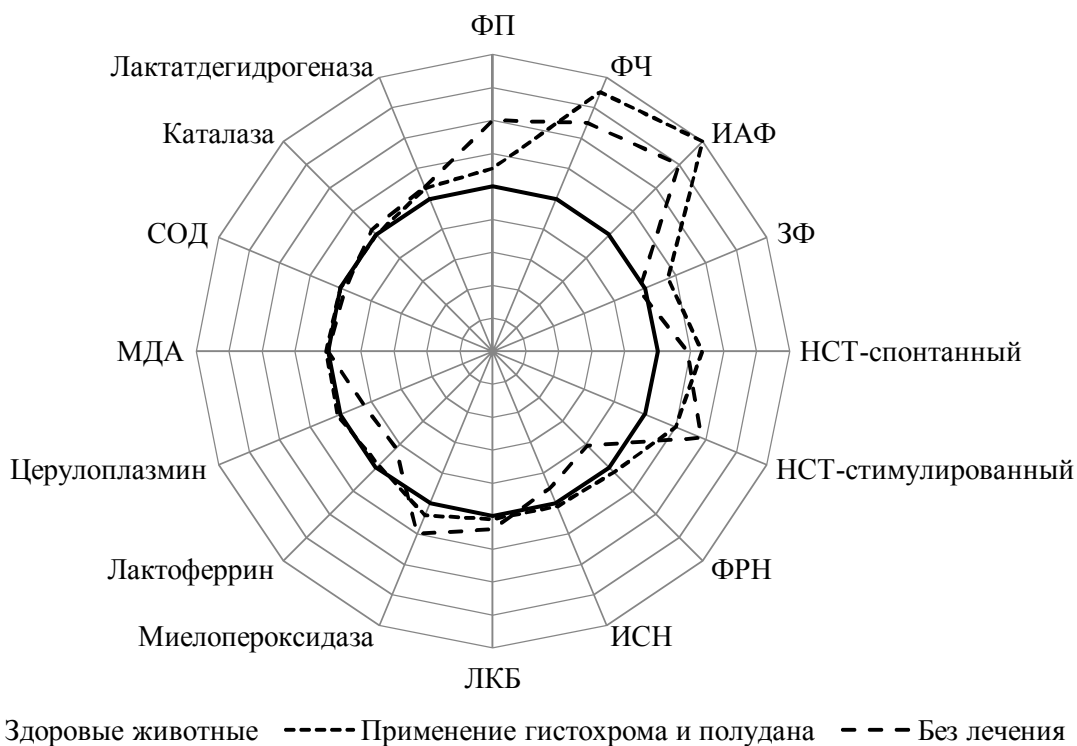


Рис. 2. Показатели фагоцитоза, уровень лактоферрина и ферментов окислительно-восстановительной системы у морских свинок с кератоконъюнктивитом, получавших и не получавших комбинацию полудана и гистохрома при фоновых значениях ГМП.

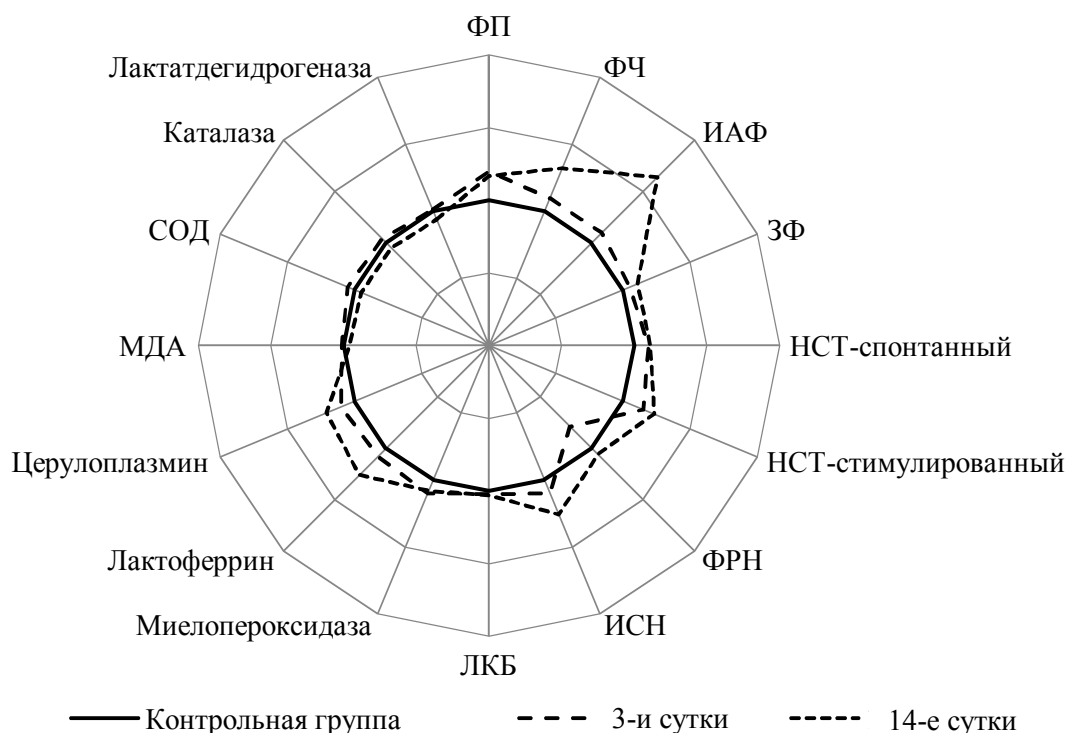


Рис. 3. Показатели фагоцитоза, уровень лактоферрина и ферментов окислительно-восстановительной системы у морских свинок с кератоконъюнктивитом, находившихся в аномальном магнитном поле и получавших комбинацию полудана и гистохрома.

В то же время фагоцитарный показатель, стимулированный НСТ-тест и уровень миелопероксидазы были ниже. В итоге при использовании комбинации препаратов 10 из 16 показателей не отличались от контроля.

В условиях воздействия аномального магнитного поля наблюдалось нарастание к концу опыта количественного выражения фагоцитарного числа и индекса активности фагоцитоза и завершенности фагоцитоза (рис. 3).

Изначально повышенные значения стимулированного варианта НСТ-теста прогрессивно нарастали к 14-м суткам. Что касается интегральных показателей, характеризующих резервные возможности кислородзависимых механизмов бактерицидности, то индекс стимуляции нейтрофилов к концу срока наблюдения достоверно превысил исходные значения, а функциональный резерв достиг значений контроля. Со стороны лизосомальных катионных белков и миелопероксидазы фагоцитов достоверных изменений в динамике проводимого лечения отмечено не было.

Уровень как лактоферрина, так и церулоплазмينا нарастал с увеличением срока наблюдения. Но если к концу опыта значения лактоферрина превышали контрольные в 1,26 раза, то церулоплазмينا – в 1,21 раза. Содержание малонового диальдегида и трех исследованных антиоксидантных ферментов характеризовалось некоторым снижением, не приведшим, однако, к появлению отличий от контроля.

Проведенное сопоставление показателей 14-х суток животных, получавших и не получавших комбинацию препаратов, выявило у морских свинок экспериментальной группы более высокие значения индекса активности фагоцитов, завершенности фагоцитоза, резервных возможностей кислородзависимых бактерицидных систем и более низкие – остальных показателей за исключением лизосомальных катионных белков и лактоферрина (рис. 4). При этом 7 показателей не отличались от контроля, а еще 6 были скорректированы по отношению к конечным значениям у животных, не получавших терапии. При этом выраженность клинических проявлений заболевания была меньше при использовании комбинации гистохрома и полудана.

Таким образом, исследование показало, что комбинация гистохрома и полудана оказывает благоприятное действие на иммунометаболические факторы гомеостаза организма животных и улучшает течение экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок как при фоновых значениях геомагнитного поля, так и в аномальном магнитном поле, что связано с адекватной активацией внутриклеточных антибактериальных систем фагоцитов, лактоферрина и церулоплазмينا, снижением уровней малонового диальдегида, супероксиддисмутазы, каталазы и лактатдегидрогеназы.

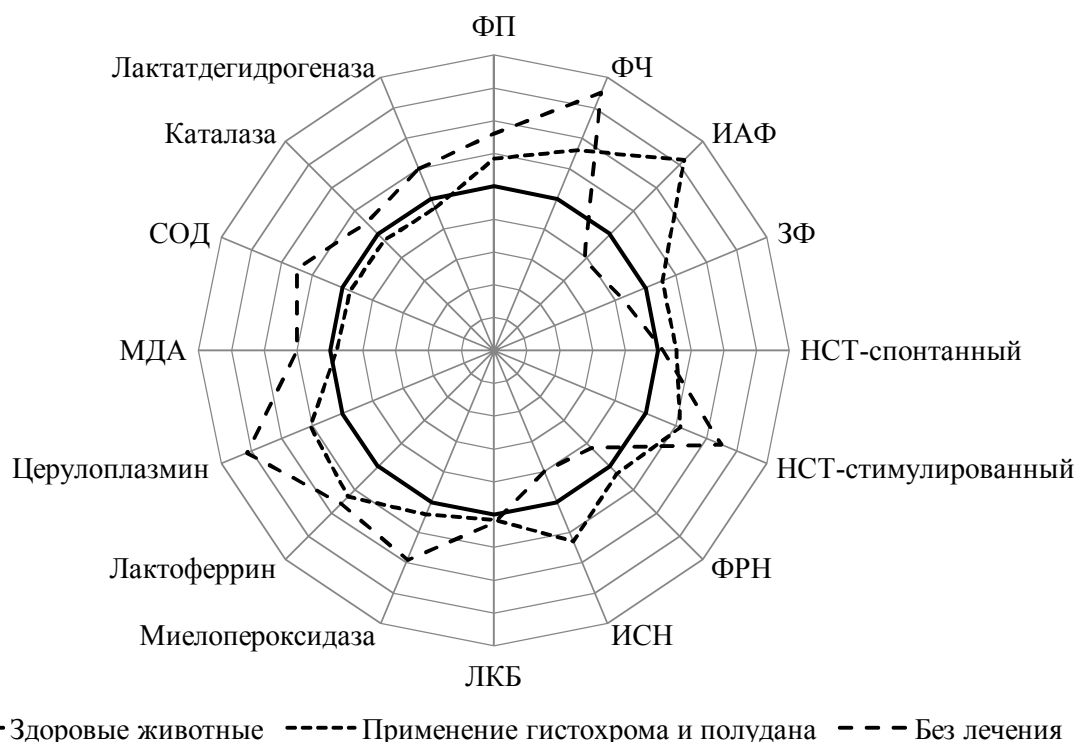


Рис. 4. Показатели фагоцитоза, уровень лактоферрина и ферментов окислительно-восстановительной системы у морских свинок с кератоконъюнктивитом, находившихся в аномальном магнитном поле, получавших и не получавших комбинацию полудана и гистохрома.

Следовательно, эти препараты могут быть использованы в лечении воспалительных заболеваний переднего отрезка глаза в экологические неблагоприятных, в том числе по уровню напряженности ГМП, зонах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Власова И.Г. Влияние инфранизочастотного магнитного поля на ритмику нервных клеток и их устойчивость к гипоксии // Биофизика. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 681-689.
2. Агаджанян Н.А., Макарова И.И. Среда обитания и реактивность организма. – Тверь, 2001. – 176 с.
3. Бажора Ю.И., Тимошевский В.Н., Протченко П.З., Головченко А.Н. Определение функциональной активности нейтрофилов в тесте восстановления нитросинего тетразолия // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 198-200.
4. Бельский В.В. Особенности экологической обстановки региона Курской магнитной аномалии и их связь с повышенной заболеваемостью населения: актовая речь на заседании Ученого совета Курского гос. мед. ун-та 9 февраля 2007 г.). – Курск : Изд-во КГМУ, 2007. – 22 с.
5. Бельский В.В., Попов М.П., Калуцкий П.В., Киселева В.В. Биофизические и медико-биологические аспекты магнитобиологии. – Курск, 1997. – 146 с.
6. Беседин А.В., Калуцкий П.В. Реакция факторов врождённого иммунитета крыс на воздействие электромагнитного поля видеодисплейного терминала // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 3-1. – С. 20-22.
7. Валлизер О.Х. Антропогенные катастрофы: неизбежные следствия эволюции и культурного развития человечества? // Вестн. РАН. – 2002. – Т. 72, № 10. – С. 919-921.
8. Гаврилов В.Г., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуратовой кислотой // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118-121.
9. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Издание 2-е. – Л. : Медицина, 1973. – 141 с.
10. Зайцева Л.Ю., Калуцкий П.В. Клинико-иммунологические особенности течения острых кишечных инфекций у детей раннего возраста, проживающих на территории Курской магнитной аномалии // Вестн. уральской мед. академич. науки. – 2006. – № 3-1. – С. 66-69.
11. Камышиников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник. – В 2 т. – Минск : Интерпрессервис, 2003. – Т. 2. – 463 с.
12. Конопля А.И., Караулов А.В., Калуцкий П.В., Медведева М.В. Геомагнитное поле и иммунитет // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика. – 2013. – № 8. – С. 3-13.
13. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М. : Высш. школа, 1980. – 293 с.
15. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М. : Медицина. – 1987. – С. 240.

16. *Пигаревский В.Е.* Лизосомально-катионный тест: метод. рекомендации. – М. : НИИЭМ АМН СССР, 1979. – 57 с.
17. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. – М. : Медиасфера, 2002. – 312 с.
18. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия. Метод. рек. / сост. М.Е. Виксман, А.Н. Маянский. – Казань, 1979. – 14 с.
19. *Теплова С.Н.* Оценка факторов неспецифической защиты организма от инфекций в клинической практике (метод. рек.). – Челябинск, 1978. – 57 с.
20. *Шафран М.Г., Пигаревский В.Е., Блинкова Э.Н.* К цитохимическому определению пероксидазной активности в клетках крови и костного мозга // Цитология. – 1979. – Т. 21, № 10. – С. 1206-1208.
21. *Шубич М.Г.* Выявление катионных белков в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. – 1974. – № 10. – С. 1321-1322.
22. *Misra H.P., Fridovich I.* The role of super oxide anion in the antioxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase // J Biol Chem. – 1972. – Vol. 247, N 10. – P. 3170-3175.