

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИКОПИДА У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТОМ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ РАЗЛИЧНОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

© *Медведева М.В.*

Кафедра офтальмологии Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: mari-la2003@mail.ru

Исследована эффективность использования иммуномодулятора ликопида в терапии экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок, находящихся при фоновых и повышенных значениях магнитного поля. Развитие кератоконъюнктивита у лабораторных животных в условиях воздействия аномального магнитного поля сопровождается формированием функционального дефицита клеток фагоцитарного ряда с угнетением резервного бактерицидного потенциала нейтрофилов, а также оксидативно-антиоксидантного дисбаланса. Показано, что применение у животных со стафилококковым кератоконъюнктивитом ликопида позволило добиться коррекции разбалансированных в процессе развития патологии показателей фагоцитарного звена иммунитета и ферментных систем организма, обеспечивающих поддержание его гомеостаза. Этот процесс отмечался как в условиях фоновых значений геомагнитного поля, так и при моделировании воздействия аномального геомагнитного поля региона Курской магнитной аномалии.

Ключевые слова: магнитное поле, ликопид, иммунометаболические факторы гомеостаза, кератоконъюнктивит, лабораторные животные.

IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF USING LYCOPID IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL KERATOCONJUNCTIVITIS UNDER CONDITIONS OF A MAGNETIC FIELD WITH DIFFERENT INTENSITY

Medvedeva M.V.

Ophthalmology Department of Kursk State Medical University, Kursk

The efficacy of using lycopid immunomodulator in the therapy of experimental keratoconjunctivitis in guinea pigs undergoing the background and elevated magnetic field values is investigated. The development of keratoconjunctivitis in laboratory animals under conditions of an abnormal magnetic field is accompanied by the formation of functional deficiency of phagocytic cells with oppression of the reserve bactericidal potential of neutrophils, as well as oxidative-antioxidant imbalance. It was shown that the use of lycopid in animals with staphylococcal keratoconjunctivitis made it possible to correct the indices of the phagocytic link of immunity and enzyme systems that had been unbalanced in the course of pathology development, ensuring the maintenance of homeostasis. This process was noted both in terms of background values of the geomagnetic field, and in simulating the effect of the anomalous geomagnetic field of the Kursk magnetic anomaly region.

Keywords: magnetic field, lycopid, immuno-metabolic factors of homeostasis, keratoconjunctivitis, laboratory animals.

Несмотря на широкий арсенал антибактериальных средств, проблема эффективного лечения заболеваний переднего отрезка глаза остается актуальной. По данным отечественных и зарубежных авторов, бактериальные конъюнктивиты составляют от 40 до 73% всех воспалительных заболеваний глаз [1]. Выраженность инфекционного процесса зависит от многих особенностей как организма, так и возбудителя. Также немаловажную роль играют внешние факторы среды, к которым относятся магнитные поля с аномальными характеристиками. Повышенные уровни геомагнитного поля (ГМП) оказывают влияние не только на организм и его иммунологические параметры, но и на активность возбудителей инфекции. Многими авторами показано, что ГМП аномальных характеристик (например, региона Курской магнитной аномалии – КМА, где напряженность ГМП в 4-5 раз превышает фоновые значения других регионов) влияет как на здоровый

организм, так и на патологически измененный [3, 4, 8 и др.]. Такие изменения приводят к возникновению особенностей протекания воспалительных процессов, что требует разработки новых подходов к их лечению и профилактике.

В связи с вышеизложенным целью работы была оценка иммунологической эффективности использования ликопида в терапии экспериментального кератоконъюнктивита у морских свинок, находящихся при фоновых и повышенных значениях магнитного поля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на 60 морских свинках-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 вызы-

вали экспериментальный кератоконъюнктивит путем инфицирования конъюнктивы глаза взвесью суточной агаровой культуры *Staphylococcus aureus* в концентрации 2×10^9 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 при фоновых значениях 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 внутрижелудочные через зонд 1 раз в день в первой половине дня введения ликопида в дозах, рассчитанных согласно инструкции по применению препарата в пересчете на массу тела животных. Для оценки влияния магнитного поля и ликопида 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 г.).

Для оценки динамики изменения иммунологических параметров крови у животных производился внутрисердечный забор крови на третьи и четырнадцатые сутки после инфицирования. Фагоцитарная активность нейтрофилов оценивалась по активности фагоцитоза – фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитов (ИАФ) [16]. Функциональная активность нейтрофилов оценивалась в тесте восстановления нитросинего тетразолия [2, 15]. Рассчитывались значения спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного (НСТ-ст.) тестов, индекс стимуляции (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 (МП) определялся цитохимически по методу Грехема-Кнолля [17]. Состояние кислороднезависимых бактерицидных систем оценивалось по уровню лизосомальных катионных белков при постановке лизосомально-катионного теста (ЛКТ) [12, 18].

Оценку уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ) производили по В.В. Меньшикову [11], каталазы – по методике М.А. Королук и соавт. [9], супероксиддисмутазы (СОД) – по Н.Р. Mirsa, Y. Fredovich [19], церулоплазмина – по методике, описанной В.С. Камышниковым [7], малонового диальдегида (МДА) – по В.Г. Гаврилову и соавт. [5], лактоферрина – методом твердофазного ИФА.

Обработка результатов исследования проводилась методами непараметрической статистики [6, 10, 13]. При оценке отличий между количественными данными внутри групп использовался критерий Вилкоксона. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка состояния нейтрофильного звена иммунитета и окислительно-восстановительной системы морских свинок с экспериментальным бактериальным кератоконъюнктивитом выявила иммунопатогенетическую основу его стойкого нарушения в условиях воздействия аномального магнитного поля в виде функционального дефицита клеток фагоцитарного ряда с угнетением резервного бактерицидного потенциала нейтрофилов. Кроме того, инфекционный процесс вызвал развитие оксидативно-антиоксидантного дисбаланса. Это сопровождалось ухудшением клинического течения заболевания и увеличения сроков выделения микроорганизмов из очага поражения.

Данное состояние требует применения препаратов, способных влиять как на фагоцитарное звено иммунитета, так на окислительно-восстановительную систему. Среди них используется такой иммуномодулятор, как ликопид (N-ацетил-глюкозаминил-N-ацетил-мурамил-дипептид), который является синтетическим аналогом основного фрагмента клеточной стенки бактерий и оказывает воздействие на моноцитарно-макрофагальное звено иммунной системы [14].

Применение ликопида в условиях нахождения инфицированных животных при фоновых значениях напряженности ГМП на широте г. Курска оказало влияние на исследованные показатели гомеостаза организма животных. В отношении фагоцитарного звена иммунитета это проявлялось в увеличении значений фагоцитарного показателя и числа, индекса активности фагоцитов и, в меньшей степени, завершенности фагоцитоза (рис. 1). Что касается систем бактерицидности фагоцитов, то увеличение показателей спонтанного НСТ-теста и снижение стимулированного НСТ-теста привело к достоверному уменьшению функционального резерва нейтрофилов. Это сопровождалось нормализацией уровня лизосомальных катионных

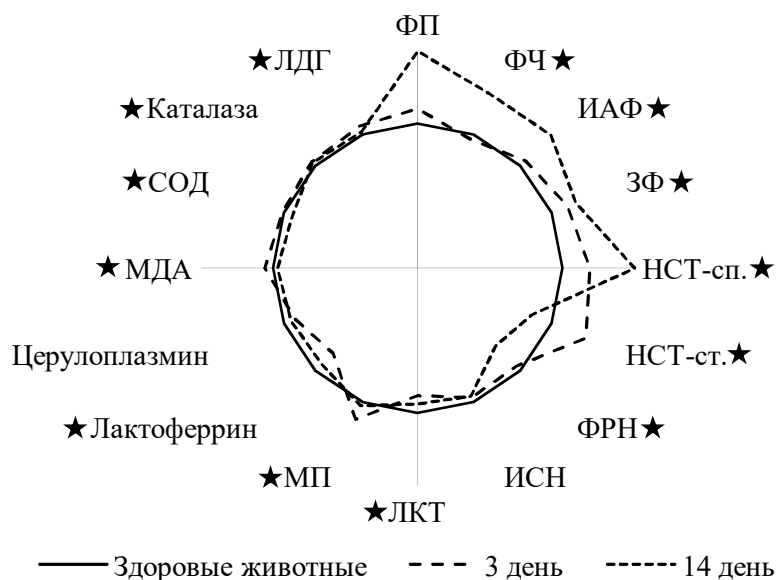


Рис. 1. Показатели фагоцитоза, лактоферрина и оксидантно-антиоксидантной системы у животных с кератоконъюнктивитом, получавших ликопид при фоновых значениях ГМП.

Примечание: здесь и далее звёздочкой показаны достоверные отличия показателей по отношению к показателям 3 суток.

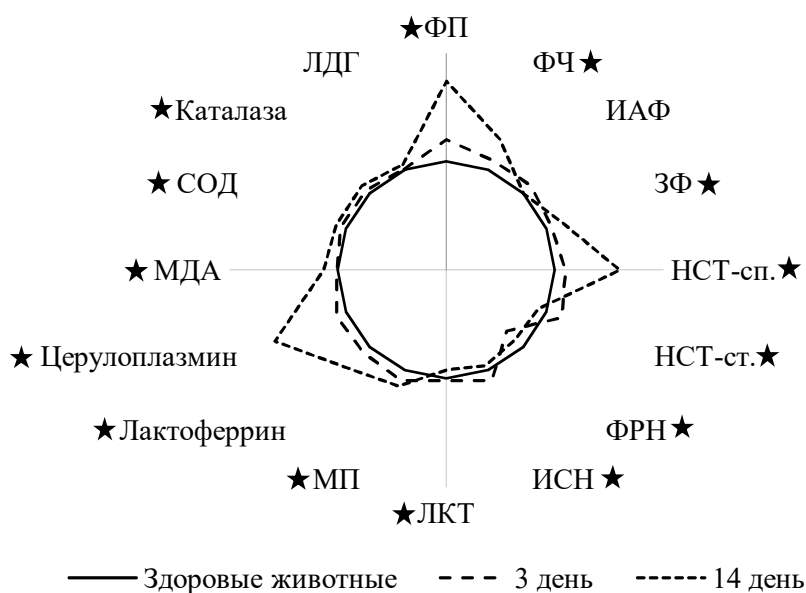


Рис. 2. Показатели фагоцитоза, лактоферрина и оксидантно-антиоксидантной системы у животных с кератоконъюнктивитом, находившихся в аномальном магнитном поле и получавших ликопид.

белков и миелопероксидазы вследствие увеличения значений первого и снижения второго показателей.

Коррекции подверглись и некоторые иные разбалансированные показатели, характеризующие состояние систем поддержания гомеостаза организма. Так, достоверно увеличилось содержание лактоферрина, что уменьшило степень его отличия от показателей контроля. В отношении церулоплазмينا можно говорить о тенденции к повышению его концентрации, что тем не менее приблизило его значения к показателям контрольной группы. Концентрации

малонового диальдегида, каталазы и лактатдегидрогеназы нормализовались, а супероксиддисмутаза стала ниже уровня здоровых морских свинок.

При сравнении значений показателей животных, получавших и не получавших ликопид, установлено, что более высокие значения фагоцитарного показателя, завершенности фагоцитоза, спонтанного НСТ-теста, лактоферрина и церулоплазмينا были зафиксированы в группе, которой вводили препарат. Наряду с этим параметры фагоцитарного числа, индекса активности

фагоцитов, стимулированного НСТ-теста, функционального резерва нейтрофилов характеризовались более низкими значениями. Таким образом, применение ликопида привело к выраженной коррекции 5 и нормализации 2 показателей.

Использование ликопида для коррекции выявленных нарушений в результате формирования инфекционного процесса переднего отрезка глаза морских свинок в аномальном магнитном поле привело к изменению исследованных показателей функционально-метаболической активности клеток фагоцитарного ряда. Это выразилось в еще большем увеличении фагоцитарного показателя и, менее выраженным, – фагоцитарного числа (рис. 2). При этом индекс активности фагоцитов нормализовался, а значения завершенности фагоцитоза достоверно увеличились. Кислородзависимые механизмы бактерицидности реагировали на действие препарата значительным увеличением показателей спонтанного НСТ-теста и снижением его стимулированного варианта, в результате чего значения последнего нормализовались. Указанные изменения привели к тому, что функциональный резерв нейтрофилов увеличился, хотя и не достиг значений здоровых животных, а индекс стимуляции нейтрофилов снижался. Аналогичные изменения отмечены и со стороны уровня лизомальных катионных белков. В то же время концентрация миелопероксидазы нейтрофилов еще более увеличилась.

Использование ликопида привело к увеличению содержания лактоферрина и еще более значимому – церулоплазмину. Гораздо менее выраженными по отношению к показателям, определенным до начала лечения, были изменения малонового диальдегида и антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, а также лактатдегидрогеназы. В результате этого достоверные отличия от контроля отмечены только в отношении малонового диальдегида, супероксиддисмутазы и каталазы.

Сравнение показателей, определенных у экспериментальных животных к концу опыта на фоне отсутствия терапии и применения ликопида, показало, что значения таких параметров, как фагоцитарное число, стимулированный НСТ-тест, лизосомальные катионные белки, миелопероксидаза, лактоферрин, супероксиддисмутаза и лактатдегидрогеназа, были ниже в группе животных, которые получали ликопид. И наоборот, значения фагоцитарного показателя, индекса активности фагоцитов, завершенности фагоцитоза, спонтанного НСТ-теста, индекса

стимуляции нейтрофилов и церулоплазмину достоверно превышали показатели морских свинок с бактериальным кератоконъюнктивитом, которые при нахождении в аномальном магнитном поле никакого лечения не получали. В результате этого наблюдалась коррекция 4 и нормализация 3 показателей.

Коррекция показателей иммунного и оксидантно-антиоксидантного статуса организма животных способствовала уменьшению выраженности симптоматики у морских свинок и снижению обсемененности слизистой оболочки глаз как в условиях фоновых значений ГМП, так и при воздействии магнитного поля аномальных характеристик.

Таким образом, применение у животных со стафилококковым кератоконъюнктивитом ликопида позволило добиться коррекции разбалансированных в процессе развития патологии показателей фагоцитарного звена иммунитета и ферментных систем организма, обеспечивающих поддержание его гомеостаза. Этот процесс отмечался как в условиях фоновых значений ГМП, так и при моделировании воздействия аномального ГМП региона КМА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнабаев Р.А., Нафикова В.Г., Мальханов В.Б., Акманова А.А., Билалов Ф.С. Роль экстраокулярной патологии в течении бактериального конъюнктивита у детей // Мед. вестн. Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 5. – С. 16-19.
2. 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.
3. Бельский В.В., Попов М.П., Калуцкий П.В., Киселева В.В. Биофизические и медико-биологические аспекты магнитобиологии. – Курск, 1997. – 146 с.
4. Беседин А.В., Калуцкий П.В. Реакция факторов врожденного иммунитета крыс на воздействие электромагнитного поля видеодисплейного терминала // Вестн. Урал. мед. акад. науки. – 2006. – № 3-1. – С. 20-22.
5. 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.
6. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 2-е издание. – 141 с.
7. Камышиников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник. В 2 т. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – Т. 2. – 463 с.
8. 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.
9. *Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
 10. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М. : Высш. школа, 1980. – 293 с.
 11. *Меньшиков В.В.* Лабораторные методы исследования в клинике. – М. : Медицина. – 1987. – 240 с.
 12. *Пигаревский В.Е.* Лизосомально-катионный тест: Метод. рекомендации // НИИЭМ АМН СССР. – М., 1979. – 57 с.
 13. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. – М. : Медиасфера, 2002. – 312 с.
 14. *Свалова Н.А.* Иммуномодулятор ликопид в комбинированной терапии воспалительных заболеваний глаз // Фундам. исследования. – 2006. – № 1. – С. 37-37.
 15. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия. Метод. рек. / сост. М.Е. Виксман, А.Н. Маянский. – Казань, 1979. – 14 с.
 16. *Теплова С.Н.* Оценка факторов неспецифической защиты организма от инфекций в клинической практике. Метод. рек. – Челябинск, 1978. – 57 с.
 17. *Шафран М.Г., Пигаревский В.Е., Блинова Э.И.* К цитохимическому определению пероксидазной активности в клетках крови и костного мозга // Цитология. – 1979. – Т. 21, № 10. – С. 1206-1208.
 18. *Шубич М.Г.* Выявление катионных белков в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. – 1974. – № 10. – С. 1321-1322.
 19. *Misra H.P., Fridovich I.* The role of super oxide anion in the antioxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase // JAMA. – 1972. – Vol. 247, N 10. – P. 3170-3175.