

© Романюк Т. І., Кліщ І. М., Герасимюк І. Є.

УДК 617. 713-001. 17:617. 749+616. 15-06+577. 1+615. 2[3. 099]-092. 9

**Романюк Т. І., Кліщ І. М., Герасимюк І. Є.**

## **КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У КРОВІ ТА ВНУТРІШНЬООЧНІЙ РІДИНІ У КРОЛІВ З ОПІКОМ РОГІВКИ ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ЕНТЕРОСОРБЕНТОМ «ПОЛІСОРБ»**

**Тернопільський державний медичний університет**

**імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль)**

Робота виконана в рамках планової наукової роботи кафедри анатомії людини Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського «Ремодельовання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті», № держ. реєстрації 0111U008026.

**Вступ.** Опіки очей належать до найтяжчого виду пошкодження органа зору. Проблема їх лікування залишається до теперішнього часу гострою і актуальною. Наслідки травм ока протягом останніх трьох десятиріч є найбільш поширеною інвалідизуючою патологією очей [10]. За даними Пасечнікова Н. В. з співавт. [4] в Україні показник частоти опіків очей у 2006 і 2011 р. р. склав відповідно 1,4 і 1,0 на 10 тис. населення, а інтенсивний показник інвалідності внаслідок очного травматизму у цей же період перебував у межах 0,1-0,7 на 10 тис. населення.

Найчастіше опікова травма очей викликається різноманітними хімічними речовинами – 60-85% випадків. Далі слідує термічні і променеві опіки. Серед хімічних опіків превалюють опіки лугами. За даними Н. О. Пучківської з співавт. [6] на їхню частку припадає 73%. Подібні дані наводяться й іншими авторами [3, 12].

Численні дослідження механізмів розвитку опікової хвороби на гістоморфологічному, біохімічному, імунологічному, електронно-мікроскопічному рівнях, як у тканинах ока, так і в організмі в цілому, сформували уявлення про патогенез опіків очей, як про багатофакторний, багатокомпонентний і взаємопов'язаний процес, який не обмежується тільки ділянкою ока, а викликає різноманітні патологічні зміни в різних системах організму людини: наростають явища аутоінтоксикації і аутосенсибілізації, виникають порушення реактивності організму, в процес втягуються імунокомпетентні органи, порушуються ферментативні та обмінні процеси, нервово-рефлекторні зв'язки, а також виникають зміни у крові і кровоносних судинах [7, 9].

**Мета дослідження** – встановити особливості клініко-біохімічних змін у крові та внутрішньоочній рідині у кролів з опіком рогівки та при корекції ентеросорбентом «Полісорб».

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти виконано на 54 кролях віком в 2 роки і з масою тіла від 2,5 до 3,0 кг. З них 6 тварин склали інтактну контрольну групу. 24 кролям наносили опіки рогівки лугом – 10% NaOH, ще 24 кролям через 5 хвилин

після нанесення опіку лугом здійснювали промивання кон'юнктивального мішка розчином сорбенту «Полісорб».

Перед процедурою виготовлялися диски діаметром 8 мм з бавовняної тканини, що володіє гігроскопічними властивостями і здатністю рівномірно розподіляти вологу по всій поверхні. Тканинні диски просочували розчином лугу і рівномірно розподіляли по поверхні рогівки без захоплення зони лімба. Експозиція лугу на рогівку складала 10 секунд, в результаті чого рогівка набула вигляду матового скла.

Забій тварин здійснювали введенням великих доз концентрованого тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/1кг) через 1, 4, 6, 12 і 24 години від початку експерименту, після чого проводили забір біологічного матеріалу для дослідження. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Всі експериментальні дослідження проводилися з дотриманням «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин».

Функціональну активність нейтрофілів оцінювали за допомогою спонтанного НСТ-тесту (сНСТ-тест) [2]. Для визначення функціонального резерву нейтрофілів використовували індукований НСТ-тест (іНСТ-тест). Розраховували показник резерву (ПР) за формулою іНСТ/сНСТ, а також коефіцієнт метаболічної активації нейтрофілів ( $K_{акт}$ ) за формулою: іНСТ – сНСТ/іНСТ [1]. Продукцію активних форм окисену (АФО) у мононуклеарних лейкоцитах (МНЛ) визначали методом проточної цитофлуориметрії на апараті Epics XL («Beckman Coulter», Франція) з використанням барвника дихлорфлуоресцеїну діацетату (ДФХ-ДА) («Sigma Aldrich», USA). Значення досліджуваного параметра виражали в умовних одиницях (інтенсивність світіння на клітину).

Надосадову частину гомогенату рогівки використовували для визначення вмісту гідропероксидів ліпідів (ГПЛ), продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів) і відновленого глутатіону (ВГ). Вміст ВГ в гомогенаті рогівки і гемолізаті еритроцитів визначали методом Ellman G. [11]. Концентрацію глутатіону виражали в гомогенаті рогівки і у гемолізаті в мг/л. Вміст ГПЛ визначали

Таблиця 1

Рівень біохімічних показників у крові та у гомогенаті рогівки інтактних кролів

Показник	АФО, ум. од	ГПЛ, сироватка, ум. од/мл	ГПЛ, гомогенат, ум. од/г	ТБК-активні продукти, сироватка, мкмоль/л	ТБК-активні продукти, гомогенат, мкмоль/кг	сНСТ-тест, %	іНСТ-тест, %	ПР	K <sub>акт</sub>
Рівень	0,37±0,02	2,75±0,23	5,86±0,37	1,84±0,48	5,64±0,48	15,53±1,57	25,96±1,01	1,65±0,11	0,401±0,014

спектрофотометричним методом [5] і виражали в умовних одиницях екстинкції. Концентрацію ТБК-активних продуктів оцінювали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [8] і виражали у сироватці в мкмоль/л, у гомогенаті – в мкмоль на 1 г білка. Вміст цитокінів визначали на напівавтоматичному імуноферментному аналізаторі «STAT-FAX 303» з використанням наборів фірми «Вектор Бест» (Росія).

У своїй роботі ми також досліджували про- і протизапальні цитокіни у процесі перебігу опікової травми та при її корекції. Серед прозапальних цитокінів визначали фактор некрозу пухлин-альфа – TNF $\alpha$  (ФНП), інтерлейкіни 1-бета, 4 і 10 (IL 1 $\beta$ , 4 і 10).

Отримані цифрові дані оброблялись методом варіаційної статистики. Визначення достовірності відмінностей порівнюваних параметрів між різними вибірками проводили з використанням t-критерію Стьюдента (при нормальному розподілі результатів) чи Манна-Уїтні (у випадку розподілу, що не був нормальним). Достовірним вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Опік рогівки супроводжувався розвитком оксидативного стресу, що характеризується збільшенням інтенсивності продукування активних форм оксигену. Через 1 годину після нанесення опікової травми продукція АФО значно зростала і становила 249% від рівня інтактних (табл. 1), а до 6-ї години від моменту моделювання патологічного процесу цей показник дещо знижувався і становив 227% від норми, однак все ж достовірно відрізнявся від рівня здорових тварин. На 12-у годину показник становив 184% від рівня інтактних тварин, на 24-у – 165%.

Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно початкових та проміжних продуктів ліпопероксидації. Зокрема, вміст ГПЛ у сироватці крові тварин з опіком рогівки через 1 годину становив 213% від аналогічного показника інтактних тварин, на 6-ту годину – 180%, на 12-ту і 24-ту відповідно 116% і 110%. У гомогенаті рогівки показник зріс в 1,5 раза через 1-ну і в 1,1 раза – через 6 годин після нанесення травми, а до 4-ї години становив 111%. За умов опіку рогівки вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові перевищував показник здорових кролів у 2,2 раза, а в гомогенаті рогівки – в 1,3 раза. До 6-ї години концентрація ТБК-активних продуктів у сироватці крові суттєво знижувалась і становила 135% від рівня інтактних тварин, а в гомогенаті – 113%. У подальшому показники знижувались і на 24-у год експерименту значення ТБК-активних продуктів в гомогенаті рогівки у кролів були нижчими на 14,5%, а в сироватці крові – на 25,9% у порівнянні з початком експерименту.

Таблиця 2

Рівень біохімічних показників у сироватці крові та у внутрішньо очній рідині інтактних кролів

	Сироватка крові, пг/мл	Внутрішньоочна рідина, пг/мл
TNF $\alpha$	0,392±0,012	0,127±0,025
IL1 $\beta$	1,31±0,02	2,62±0,03
IL4	4,24±0,15	2,68±0,03
IL10	15,40±0,23	6,62±0,09

Застосування сорбенту «Полісорб» сприяло значно меншій інтенсифікації окиснювальних процесів у сироватці крові опечених тварин. Так, вміст АФО протягом усього експерименту був достовірно нижчим, ніж у тварин контрольної групи і до 24-ї години складав 138% від рівня інтактних кролів, тоді як у групі порівняння – 173%. Знижувався також вміст проміжних продуктів ліпідної пероксидації – ГПЛ і ТБК-активних продуктів, причому на 24-у годину від моменту нанесення опікової травми у гомогенаті рогівки показники достовірно не відрізнялись від інтактних тварин.

Розвиток запалення у рогівці характеризувався збільшенням вмісту активних нейтрофілів у периферійній крові. На 1-у годину від початку експерименту показники сНСТ-тесту були вищі на 78% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контролем. У меншій мірі, на 49% ( $p < 0,001$ ) змінилися показники індукованого НСТ-тесту, показник резерву склав (1,40±0,08), що на 18% менше, ніж у контролі. Зменшення показника резерву відображає зниження функціональних резервів нейтрофілів, характерне для запалення. На це ж вказує і суттєве зниження коефіцієнта метаболічної активації нейтрофілів (69% від рівня здорових тварин). На 6-у годину з моменту нанесення травми показники сНСТ-тесту і іНСТ-тесту дещо знизились. ПР на 6-у годину з моменту нанесення ушкодження також залишався нижчим від контрольних значень (1,54±0,09), ( $p > 0,05$ ), а коефіцієнт резерву ж дещо збільшився порівняно з 1-ю годиною, однак був достовірно нижчим, ніж у контрольних тварин (87% від норми). На 12-ту годину експерименту у кролів показники сНСТ-тесту і зНСТ-тесту були достовірно нижчими в 1,38 раза і 1,31 раза відповідно по відношенню до першої години. Показник резерву, а також коефіцієнт активації нейтрофілів через годину від моменту нанесення травми суттєво не відрізнялися у порівнюваних групах. Через 24 години з моменту нанесення ушкодження рогівки показники НСТ-тесту знизилися, що супроводжувалося зменшенням показника резерву до (1,31±0,06) і K<sub>акт до</sub> (0,239±0,007). У цей термін

експерименту значення сНСТ-тесту і іНСТ-тесту були нижчими в 1,39 раза і 1,64 раза у порівнянні зі здоровими тваринами.

На зниження інтенсивності запальної реакції за умов застосування сорбенту «Полісорб» вказують показники НСТ-тесту у тварин цієї групи. Нами зафіксовано зниження спонтанного і індукованого тесту з нітросинім тетразолієм протягом усього експерименту у порівнянні з контрольними тваринами, а також покращання функціональної активності нейтрофілів, на що вказує зростання показника резерву і коефіцієнта активації.

Нанесення опіку рогівки тваринам призвело до зниження концентрації ВГ порівняно з інтактними тваринами (у нормі в гомогенаті рогівки –  $(3,98 \pm 0,15)$  мг/г) на 17,6% на 1-у годину, а до 6-ї години спостерігалось подальше падіння і показник склав 72,9% від норми. У гемолізаті еритроцитів кролів з гострою травмою рогівки спостерігали тенденцію до підвищення рівня глутатіону і до 6-ї години з моменту нанесення травми його рівень був вищим від вихідних значень на 20,2% (у контрольних тварин –  $(72,6 \pm 2,5)$  мг/л). Вміст ВГ у гомогенаті рогівки у кролів на 12-ту і 24-ту години був нижчим на 29,1% і на 16,9% у порівнянні з початком експерименту. Концентрація ВГ в гемолізаті еритроцитів у цій групі була також більш низькою і склала на 1-у годину – 60,7%, на 8-у – 56,0% від норми.

Ми також встановили, що рівень ФНП у сироватці крові здорових кролів становив  $(0,392 \pm 0,012)$  пг/мл, а у внутрішньоочній рідині –  $(0,127 \pm 0,025)$  пг/мл (табл. 2). Через 1 годину після нанесення опікової травми рівень ФНП у сироватці крові зріс у 2,4 раза і продовжував зростати до 12-ї години (3,1 раза). Через 12 годин від моменту виникнення опіку спостерігалось деяке зниження вмісту ФНП, однак показники все ж достовірно перевищували рівень здорових тварин. Ця тенденція спостерігалась і на 24-у години.

У внутрішньоочній рідині рівень ФНП через 1 годину після нанесення травми зріс ще більше і у 12,9 раза перевищував норму, а до 6-ї год зростання становило 15,1 раза. Причиною цього може бути інтенсивна міграція лейкоцитів у місце ураження.

У тварин, яким після нанесення опікової травми застосовували сорбент «Полісорб» зростання рівня ФНП було меншим, ніж у контрольних тварин. Зокрема, у сироватці крові через 1 год показник перевищував норму у 1,8 раза, через 6 годин – у 2,3 раза. У подальшому він знижувався і через 24 години відрізнявся від показника норми в 1,2 раза, причому зниження було достовірним відносно контролю.

Ще більші зміни ми відмітили у внутрішньоочній рідині – через 1 годину зростання показника становило 7,9 раза, через 6 годин – 9,6 раза, проте у подальшому наступало зниження вмісту ФНП і на 24 години він лише у 4,6 раза перевищував норму.

У наших дослідженнях рівень IL-1 $\beta$  у сироватці здорових тварин становив  $(1,31 \pm 0,02)$  пг/мл, а у внутрішньоочній рідині –  $(2,62 \pm 0,03)$  пг/мл. Опік рогівки спричинився до його зростання у сироватці крові у всі терміни дослідження з максимумом на 6-у

годину від моменту нанесення травми, коли показник перевищував рівень інтактних кролів в 3 раза з подальшим поступовим зниженням. У внутрішньо очній рідині рівень цього цитокіна через 1 годину від опіку перевищував норму у 2,7 раза на до 6-ї годин зріс ще більше і становив 327% від норми.

Застосування сорбенту «Полісорб» мало позитивний вплив на даний показник. Зокрема, у сироватці крові зростання було не настільки вираженим і на 6-у годину становило 2,2 раза, причому показник достовірно відрізнявся від контрольної групи. У внутрішньоочній рідині через 1 годину від опікової травми зростання становило 1,5 раза, на 6-ту – 2 раза, а до 24-ї год знижувалося ще більше і перевищувало норму на 50%.

Серед великої групи цитокінів інтерлейкін-4 (IL-4) посідає особливе місце, позаяк проявляє як про-, так і протизапальну дію. У своїх дослідженнях ми відмітили менш значне зростання цього цитокіну, ніж IL-1, ФНП-альфа. У сироватці крові через 1 годину від нанесення опікової травми показник зріс на 24,5% і продовжував зростати до 12-ї години, коли становив 154,2% від норми. До 24-ї години спостерігалось деяке зниження цього цитокіна і він становив 129,2% від норми. У внутрішньоочній рідині через 1 годину від нанесення опіку вміст IL4 перевищував норму на 53%, а на 6-у – на 87%.

При застосуванні сорбенту «Полісорб» динаміка зростання IL4 була ще помірнішою. У сироватці крові показники становили 119, 121, 128 і 107% від рівня здорових тварин у відповідні терміни дослідження, причому до 24-ї годни різниця рівня цитокіна була у межах достовірності з інтактними тваринами. У внутрішньоочній рідині ми також відмітили менш значне, порівняно з контролем, зростання продукції цього цитокіна. Через 1 годину від моменту нанесення опікової травми він перевищував норму на 23%, через 6 – на 65%, на 12-ту – на 66% і на 24-у – на 53%.

Опікова травма супроводжується також пригніченням продукції IL-10. Зокрема, у сироватці крові через 1 годину після моделювання опіку рогівки продукція IL-10 знизилась на 21% порівняно з інтактними тваринами. Подальше зниження тривало до 12-ї годни, коли показник склав 55% від норми. На 24-ту годину рівень IL-10 дещо зріс, однак був достовірно нижчим від показника здорових тварин. Аналогічна тенденція спостерігалась і у внутрішньоочній рідині. Через 1 годину від нанесення опікової травми показник склав 62% від рівня інтактних кролів, а на 6-ту год – 49%.

У тварин, яким застосовували сорбент «Полісорб» ми не спостерігали такого виразного зниження протизапального цитокіна. У сироватці крові через 1 годину від нанесення опіку показник склав 87% від норми і був вірогідно вищим від рівня контрольних тварин. У подальшому спостерігалось незначне зниження цитокіна через 6 і 12 годин від початку експерименту і його зростання через 24 години, коли він склав 89% від рівня здорових тварин. Через 1 годину від моменту нанесення опікової травми

показник у внутрішньоочній рідині склав 73% від рівня здорових тварин поступово зростаючи до 24-ї години, коли він склав 94% від норми і достовірно не перевищував рівень здорових тварин.

Таким чином, опікова травма рогівки супроводжується активацією системної відповіді місцевої запальної реакції, спричиненої інтенсифікацією неспецифічних факторів імунного захисту, надмірним продукуванням прозапальних і пригніченням експресії протизапальних цитокінів. Застосування сорбенту «Полісорб» у значній мірі нормалізує імунну відповідь на пошкодження і позитивно впливає на цитокіновий статус у сироватці крові і внутрішньоочній рідині.

### Висновки.

1. Опікова травма рогівки супроводжується активацією системної відповіді місцевої запальної реакції, спричиненої інтенсифікацією неспецифічних факторів імунного захисту, надмірним продукуванням прозапальних і пригніченням експресії протизапальних цитокінів.

2. Застосування сорбенту «Полісорб» у значній мірі нормалізує імунну відповідь на пошкодження і позитивно впливає на цитокіновий статус у сироватці крові і внутрішньоочній рідині.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження дозволять обґрунтувати нові методи надання першої допомоги та визначити напрямки корекції при хімічних опіках органа зору.

### Література

1. Влізло В. В. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві і ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич [та ін.]. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
2. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. II. Определение биоцидности лейкоцитов. Методические рекомендации / Под ред. Д. Н. Маянского. – Новосибирск, 1996. – 32 с.
3. Ермолаев В. Г. Структура бытовых ожогов органа зрения / В. Г. Ермолаев, А. И. Плотников, В. Н. Курочкин // Ожоги глаз и их последствия: науч.-практ. конф., 23–24 мар. : материалы. – М., 1997. – С. 7–8.
4. Клініко-експериментальні результати застосування амніотичної оболонки та криоліофілізованої рогівки свині в якості матеріалу для кератопластики / Н. В. Пасечнікова, С. А. Якименко, В. В. Бігуняк [та ін.] // Медицина сьогодні і завтра. – 2011. – № 1–2. – С. 50–51.
5. Колесова О. Е. Перексидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
6. Пучковская Н. О. Патогенез и лечение ожогов глаз и их последствий / Н. О. Пучковская, В. М. Непомнящая. – М., 1973. – 192 с.
7. Сомов Е. Е. Клиническая анатомия органа зрения человека / Е. Е. Сомов. – М. : МЕДпресс-информ, 2005. – 136 с.
8. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // В кн. : Современные методы в биохимии. Под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
9. Черныш В. Ф. Ожоги глаз состояние проблемы и новые подходы / В. Ф. Черныш, Э. В. Бойко. – СПб. : ВМедА, 2008. – 135 р.
10. Якименко С. А. Стан надання спеціалізованої допомоги потерпілим з опіками очей в Україні / С. А. Якименко // Офтальмол. журн. – 2008. – № 6. – С. 79–83.
11. Ellman George L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Biochem. and Biophys. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.
12. Schrage N. F. The effect of irrigation with phosphate buffer after alkali burn / N. F. Schrage, R. Kuckelkorn, M. Redbrake [et al.] // 22<sup>nd</sup> European cornea conference: abstract book. – Aachen, Germany, 1996. – P. 4–9.

УДК 617. 713-001. 17:617. 749+616. 15-06+577. 1+615. 2|3. 099]-092. 9

### КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У КРОВІ ТА ВНУТРІШНЬООЧНІЙ РІДИНІ У КРОЛІВ З ОПІКОМ РОГІВКИ ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ЕНТЕРОСОРБЕНТОМ «ПОЛІСОРБ»

Романюк Т. І., Кліщ І. М., Герасимюк І. Є.

**Резюме.** В експерименті на кролях вивчено особливості динаміки біохімічних показників у крові і внутрішньоочній рідині за умов нанесення хімічного опіку рогівки лугом та обґрунтовано можливість застосування для надання першої допомоги препарату «Полісорб». При цьому встановлено, що опіки рогівки лугом у кролів супроводжуються активацією системної відповіді місцевої запальної реакції, спричиненої інтенсифікацією неспецифічних факторів імунного захисту, надмірним продукуванням прозапальних і пригніченням експресії протизапальних цитокінів. Застосування сорбенту «Полісорб» у значній мірі нормалізує імунну відповідь на пошкодження і позитивно впливає на цитокіновий статус у сироватці крові і внутрішньоочній рідині.

**Ключові слова:** рогівка, опік, луг, запалення, імунітет.

УДК 617. 713-001. 17:617. 749+616. 15-06+577. 1+615. 2|3. 099]-092. 9

### КЛІНІКО-БІОХІМІЧЕСКІЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ И ВНУТРИГЛАЗНОЙ ЖИДКОСТИ У КРОЛЕЙ С ОЖОГОМ РОГОВИЦЫ И ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭНТЕРОСОРБЕНТОМ «ПОЛИСОРБ»

Романюк Т. И., Клищ И. М., Герасимюк И. Е.

**Резюме.** В эксперименте на кролях изучены особенности динамики биохимических показателей крови и внутриглазной жидкости в условиях нанесения химического ожога роговицы щелочью, и обоснована возможность применения для оказания первой помощи препарата «Полисорб». При этом установлено, что

ожоги роговицы щелочью у кролей сопровождаются активацией системного ответа местной воспалительной реакции, вызванной интенсификацией неспецифических факторов иммунной защиты, чрезмерным продуцированием провоспалительных и угнетением экспрессии противовоспалительных цитокинов. Применение сорбента «Полисорб» в значительной мере нормализует иммунный ответ на повреждение и положительно влияет на цитокиновый статус в сыворотке крови и внутриглазной жидкости.

**Ключевые слова:** роговица, ожог, щелочь, воспаление, иммунитет.

**UDC** 617. 713-001. 17:617. 749+616. 15-06+577. 1+615. 2[3. 099]-092. 9

### **Clinical and Biochemical Changes in Blood and Internal Eye Fluid among Rabbits with Cornea Burns and at Correction by Means of Polisorb Enterosorbent**

**Romaniuk T. I., Klishch I. M., Herasymiuk I. Ye.**

**Abstract.** Eye burns belong to the most severe case of eye injury. The problem of their medical treatment still is rather acute and relevant. Mostly, eye burns are caused by various chemicals. The most common among chemical eye burns are alkali burns.

Numerous studies of the burn development mechanisms on histomorphologic, biochemical, immunological and electron-microscopic levels in both eye tissues and the whole organism have shaped the picture of eye burn pathogenesis as a multi-factor and multi-componential and interconnected process affecting the eye and leading to various pathological changes in different systems of human body, i. e. the phenomena of autointoxication and autosensibilization become frequent, the organism responsiveness can be violated, some immunocompetent organs become involved in the process, some fermentation and metabolic processes as well as nerve and reflex correlations may be violated. Also, there may occur some changes in blood and blood vessels.

The purpose of our research was to define the peculiarities of clinical and biochemical changes in blood and internal eye fluid among rabbits with cornea burn and at correction by means of "Polisorb" enterosorbent.

The experiments were made on 54 rabbits aged 2 years and with the weight of 2. 5 – 3. 0. kg. 6 of these rabbits were the intact control group. 24 rabbits were affected by alkali cornea burns – 10% NaOH, 24 other rabbits had their conjunctival sac watered with "Polisorb" sorbent 5 minutes after the alkali burn.

Before the procedure pads were made. They had the diameter of 8 mm and were made of cotton with hygroscopic properties and ability to evenly distribute moisture about the entire surface. The cotton pads absorbed the alkali solution and evenly distributed about the cornea surface not involving the corneal limbus. The alkali exposition on the cornea was 10 seconds, after this the cornea looked like matte glass.

The animals were killed by means of big amount of concentrated sodium thiopental (25 mg / 1 kg) after 1, 4, 6, 12 and 24 hours from the beginning of the experiment. Then the biological material was taken for research. All the experiments were conducted in compliance with "The Rules of Conducting Research Using Experimental Animals".

The functional activity of neutrophils and functional backup were studied. The backup factor and the neutrophil metabolic activity coefficient were calculated. The production of reactive oxygen species in mononuclear leukocytes was studied by means of ductal cytofluorometry. The supernatant part of the cornea homogenate is used to measure the hydroperoxide of lipids, products reacting with thiobarbituric acid and renewed glutathione. The cytokine amount was measured on a semi-automatic enzyme-immunoassay device "STAT-FAX 303" using the sets of "Vector Best" (Russia).

In our research, we also studied proinflammatory and antiinflammatory cytokines in the process of burn and at its correction.

It has been established that the cornea burn is accompanied by the development of oxidative stress characterized by increase of intensiveness in reactive oxygen species production. The same tendency can be observed in early and intermediate lipid peroxidation products. The cornea inflammation development is characterized by increase in the amount of active neutrophils in the peripheral blood.

The development of cornea inflammation is characterized by increase in the amount of active neutrophils and decrease in the concentration of reduced glutathione in peripheral blood as compared with intact animals.

The similar changes of the studied parameters were during using "Polisorb", however, the degree of deviation from that of control animals was significantly lower than in animals which correction was not performed.

Thus, the cornea burn is accompanied by activation of the system response of the local inflammatory reaction caused by the intensification of non-specific factors of immune protection, extensive production of proinflammatory and decrease of anti-inflammatory cytokine expression. The usage of "Polisorb" sorbent normalizes the immune response to the injury to a considerable extent and positively influences the cytokine status in the blood serum and internal eye fluid.

**Key words:** cornea, burn, alkali, inflammation, immune protection.

*Рецензент – проф. Кочина М. Л.*

*Стаття надійшла 29. 07. 2014 р.*